

ENTWICKLUNG UND ÜBERPRÜFUNG EINER MIKROMETHODE
ZUR FRÜHERKENNUNG VON INFEKTIONEN AN
NEUGEBORENE

BIRGIT I. SCHÄFER, GEB. STELZL

~~1987~~

Disbui. München
1988



Aus der Kinderpoliklinik der Universität München

Prof. Dr. med. Heinz Spiess

Entwicklung und Überprüfung einer Mikromethode
zur Früherkennung von Infektionen an Neugeborenen

Dissertation

zum Erwerb des Doktorgrades der Medizin

an der Medizinischen Fakultät der

Ludwig-Maximilians-Universität zu München

vorgelegt von

Birgitt I. Schäfer, geb. Stelzl

aus

Mindelheim

Jahr

1987

Mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät
der Universität München

Berichterstatter : Prof. Dr. med. H.J. Suschke

Mitberichterstatter : Prof. Dr. med. H. Spiess

Dekan : Prof. Dr. med. W. Spann

Tag der mündlichen Prüfung : 28.01.1988

Inhaltsverzeichnis

1. Einführung

2. 1. Kapitel

3. 2. Kapitel

4. 3. Kapitel

5. 4. Kapitel

6. 5. Kapitel

7. 6. Kapitel

8. 7. Kapitel

9. 8. Kapitel

10. 9. Kapitel

11. 10. Kapitel

12. 11. Kapitel

13. 12. Kapitel

14. 13. Kapitel

15. 14. Kapitel

16. 15. Kapitel

17. 16. Kapitel

18. 17. Kapitel

Für meine Mutter und meinen Vater

in Dankbarkeit und Liebe

19. 18. Kapitel

20. 19. Kapitel

21. 20. Kapitel

22. 21. Kapitel

23. 22. Kapitel

24. 23. Kapitel

25. 24. Kapitel

26. 25. Kapitel

27. 26. Kapitel

28. 27. Kapitel

29. 28. Kapitel

30. 29. Kapitel

Inhaltsverzeichnis

1. Einleitung
2. Methodik
 - 2.1. Patientengut
 - 2.2. Methode
 - 2.2.1. Untersuchungsmaterial
 - 2.2.2. Ansatz
 - 2.2.3. Ausstrich
 - 2.2.4. Normalwerte
 - 2.2.5. Untersuchungsgeräte
 - 2.2.6. Untersuchungsreagentien
 - 2.2.7. Dokumentationsmaterial
 - 2.3. Fehlerquellen
 - 2.3.1. Methodische Fehler
 - 2.3.2. Systematische Fehler
 - 2.4. Vergleichende Infektionsparameter
3. Ergebnisse
 - 3.1. Kinder mit einer Tragezeit zwischen 27 und 37 Wochen
 - 3.1.1. Kinder mit klinisch nachgewiesener Infektion
 - 3.1.2. Kinder ohne Infektion
 - 3.1.3. Kinder mit fraglicher Infektion
 - 3.2. Kinder mit einer Tragezeit zwischen 38 und 42 Wochen
 - 3.2.1. Kinder ohne Infektion
 - 3.2.2. Kinder mit fraglicher Infektion
4. Übersicht über die gefundenen Keime
5. Diskussion
6. Zusammenfassung
7. Literaturverzeichnis
8. Danksagung
9. Lebenslauf

Erläuterung der im Text verwendeten Abkürzungen

BSG	Blutsenkungsgeschwindigkeit
CRP	C - reaktives Protein
SSW	Schwangerschaftswoche
EDTA	Ethylendiamintetraessigsäure
PIC	Pseudoisocyaninchlorid
Neutrophilenindex = Leukozytenratio	

1. Einleitung

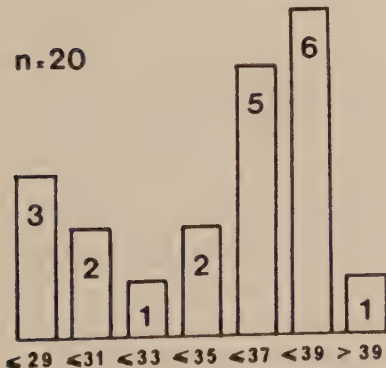
Die frühzeitige Erkennung einer Infektion bei Neugeborenen ist aufgrund der klinischen Symptome und der unspezifischen Entzündungsparameter (BSG, CRP, Leukozytenzahl) sehr unzuverlässig. Aussagekräftige mikrobiologische Kulturen benötigen eine große Zeitspanne und eine erhebliche Menge an Untersuchungsmaterial.

Ziel dieser Arbeit ist die Entwicklung und die Überprüfung einer Mikromethode zur Früherkennung der Infektionen an Neugeborenen mit Hilfe der Leukozytenfärbemethode nach Suschke.

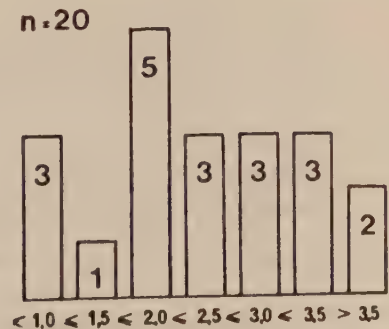
2. Methodik

2.1. Patientengut

Untersucht werden 20 nicht ausgesuchte Kinder der Poliklinik und der I. Frauenklinik der Universität München, darunter 13 Frühgeborene zwischen 27. und 37. SSW und 7 Neugeborene zwischen 38. und 40. SSW.

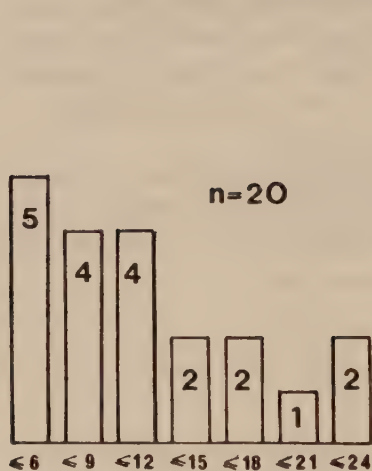


Tab. 1 Entbindungszeitpunkt
in SSW

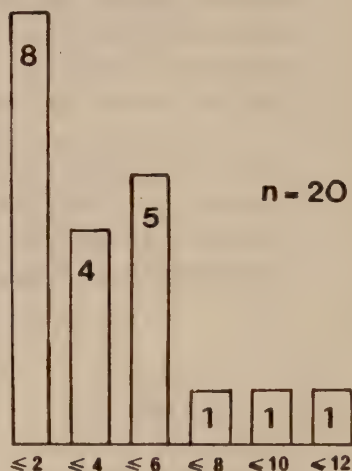


Tab.2 Geburtsgewicht in kg

Bei diesen Kindern werden in regelmäßigen Abständen bis zur Entlassung, dem Versterben oder bis maximal 3 Monate postpartal Blutproben kapillär entnommen.



Tab. 3 Anzahl der Blutproben



Tab. 4 Beobachtungszeitraum in Wochen

2.2. Methode

2.2.1. Untersuchungsmaterial

80 - 100 µl kapilläres Blut^x wird an der Ferse mittels einer Glaskapillare entnommen, in ein mit EDTA beschichtetes Röhrchen überführt und vorsichtig umgeschüttelt. Das Blut darf nicht geronnen sein und muß innerhalb einer Stunde verarbeitet werden (16).

^x Nur in einem Fall (S. M. I) wurde eine venöse Blutprobe entnommen.

2.2.2. Ansatz

In ein Eppendorfgefäß werden folgende Reagentien pipettiert:

50 µl kapillär entnommenes Blut.

50 µl PIC Pseudoisocyaninchlorid 5×10^{-4} molare wässrige Lösung. Dieser kationische Farbstoff polymerisiert mit anionischen Zellbestandteilen zu einem Farbstoff mit Fluoreszenzeigenschaften (18; 19)

3 µl Resochin 5 % wässrige Lösung. Es bewirkt durch die membranstabilisierende und lysosomenhemmende Wirkung eine klare Darstellbarkeit der einzelnen Zellen (3; 9).

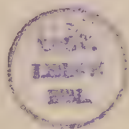
3 µl Benzol Es führt als Lipidlösungsmittel zur Degranulation der Monozyten und Lymphozyten (19).

Dieser Ansatz wird mit einer Pipette 10 mal durchgemischt und 20 Minuten stehen gelassen.

2.2.3. Ausstrich

5 µl des Ansatzes werden auf einen Objektträger ausgestrichen. Das luftgetrocknete Präparat ist beliebig lang haltbar.

Das Präparat wird unter einem Fluoreszenzmikroskop mittels einem Ölimmersionsobjektiv betrachtet. Es werden 100 Granulozyten ausgezählt und in granulierte, degranulierte und nicht differenzierbare eingeteilt. Während die granulierten Granulozyten an den aufleuch-



tenden Granula erkennbar sind, werden die degranulierten Zellen anhand des gelappten Kerns, der Kernplasmarelation und der Vakuolen im Zytoplasma identifiziert.



Abb. 1 granulierter und degranulierter Granulozyt im Vergleich

2.2.4. Normalwerte

Bei klinisch gesunden Kindern findet sich im Normalfall ein Anteil von weniger als 15 % der degranulierten Granulozyten. In vereinzelt Fällen deutet ein Anstieg bis zu 20 % auf eine labile Abwehrlage hin, während eine darüber hinausgehende Erhöhung ein Indikator für eine frische Infektion darstellt. Werte über 70 % entsprechen einer floriden Sepsis.

2.2.5. Untersuchungsgeräte

Glaskapillare 100 μ l

EDTA Röhrchen von Liebl & Ritzinger

Eppendorf Reaktionsgefäße 1,5 ml (3810/0030 102.002)

Eppendorf Pipetten 3 μ l, 5 μ l, 50 μ l, 100 μ l

Fluoreszenzmikroskop Ortholux II von Leitz mit Xenon
Hochdrucklampe 75

Blauregelfilter (BG 12, Leitz)

Sperrfilter (TG 510, Leitz)

Objektiv 160/0, 17 NPL Fluotar, 100/1, 32 - 0,60 Öl

2.2.6. Untersuchungsreagentien

Resochin Bayer Ch.-B. KC 921 W 5 % wässrige Lösung

Benzol zur Analyse Art. 1783 (Merck)

Pseudoisocyaninchlorid 5×10^{-4} molare wässrige Lösung
Immersionsöl.

2.2.7. Dokumentationsmaterial

Ektachrome 160 Tungsten ET 135 - 20

2.3. Fehlerquellen

2.3.1. Methodische Fehler

- Durch eine fehlerhafte Blutentnahme kann es zu einer intrakapillären Gerinnung kommen. Eine exakte Ausdifferenzierung des Ausstriches ist dann meist nicht mehr möglich.

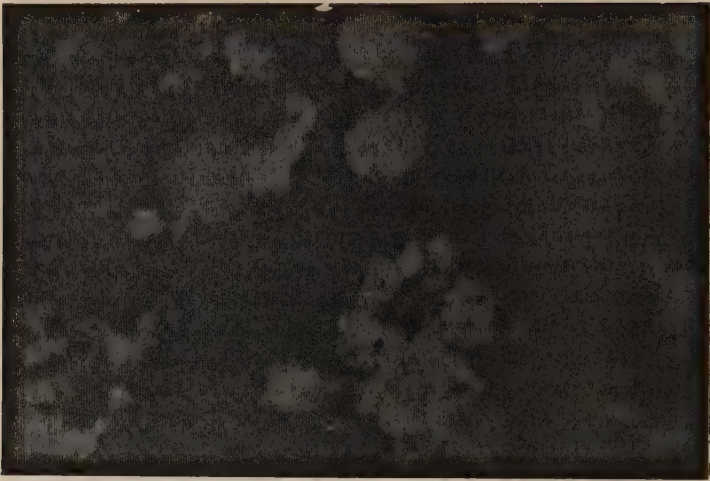


Abb. 2 Ausstrich einer partiell geronnenen Probe

- Eine forcierte Blutentnahme mit Gewebsmassage führt möglicherweise zu artificiellen Degranulationen und damit zu einem falsch positiven Ergebnis.
- Die exakte Identifikation der degranulierten Zellen wird durch Verklumpung des Kerns und Verschiebung der Kernplasmarelation aufgrund der Einwirkung von Benzol auf die Leukozytenmembran erschwert.

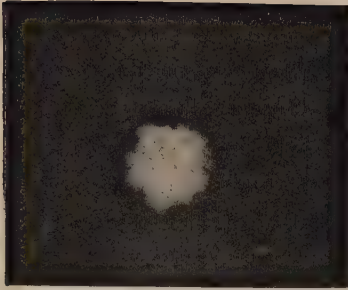


Abb. 3 Verklumpter Kern eines
Granulozyten

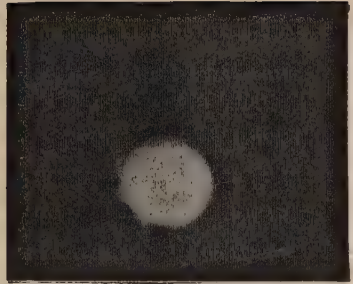


Abb. 4 Monozyt

2.3.2. Systematische Fehler

Systematische Fehler entstehen durch Adhäsionen von Reagentien an der Oberfläche von Pipetten und Gefäßen. Somit ist nie ein identisches Ansatzmischungsverhältnis zu erreichen. Weiterhin entsteht beim Ausstreichen des Präparates durch Sog und Druck ein Anstieg der nicht differenzierbaren Zellen.

2.4. Vergleichende Infektionsparameter

Als weitere Kontrollparameter werden zusätzlich die Leukozytenzahl aufgeführt, wobei ein Wert kleiner 10.000/mm³, entsprechend einem akuten Verbrauch, auf eine Infektion in den ersten Lebenstagen hinweist (1). Der Neutrophilenindex (=ratio), als Quotient aus stabkernigen zu neutrophilen Granulozyten, zeigt einen labilen Zustand des Kindes an, wenn er größer oder gleich 0,2 ist (10).

Die qualitative Bestimmung des C-reaktiven Proteins dient zur Früherkennung einer Infektion, wird aber erst 24 Stunden post infectionem positiv (15; 6; 14). Die Höhe der Sauerstoffzufuhr kann bei kontrollierter Beatmung und regelmäßiger Kontrolle der Blutgase als weiterer Parameter einer Veränderung des klinischen Befundes gelten (12).

Die Körpertemperatur gibt ebenso einen Hinweis auf mögliche Infektionen (2).

3. Ergebnisse

3.1. Kinder mit einer Tragezeit zwischen 27 - 37 Wochen

3.1.1. Kinder mit klinisch nachgewiesener Infektion

3.1.1.1. S. M. I., 27. SSW, Geb.-Gewicht 980 g, feminin

Geburt:

Bei dem Kind handelte es sich um eine Sturzgeburt in der 27. SSW bei APGAR-Werten 3 / 4 / 8. Wegen einer massiven Ateminsuffizienz wurde eine Reanimation erforderlich.

Mikrobiologie:

Im Magensaft konnten mehrere Granulozyten sowie Streptokokken nachgewiesen werden. Die Untersuchung des Venenkatheters am 5. postpartalen Tag erbrachte den Nachweis von hämolysierenden Streptokokken der Gruppe D.

Therapie:

Bei vorliegender Panzytopenie wurde am 1. postpartalen Tag eine Bluttransfusion erforderlich. Gleichzeitig wurde eine antibiotische Behandlung mit Baypen und Gernebcin begonnen.

Differentialblutbild mit PIC-Färbung:

Bei der Erstuntersuchung zeigte sich ein Anteil von 45 % degranulierten Granulozyten. Bei weiteren Kontrolluntersuchungen am 2. bis 5. Tag lag der Anteil der degranulierten Zellen mit ca. 30 % weiterhin im stark pathologischen Bereich. (Anzumerken ist, daß in diesem Fall das Blut immer zentralvenös entnommen wurde).

Klinische Infektionsparameter:

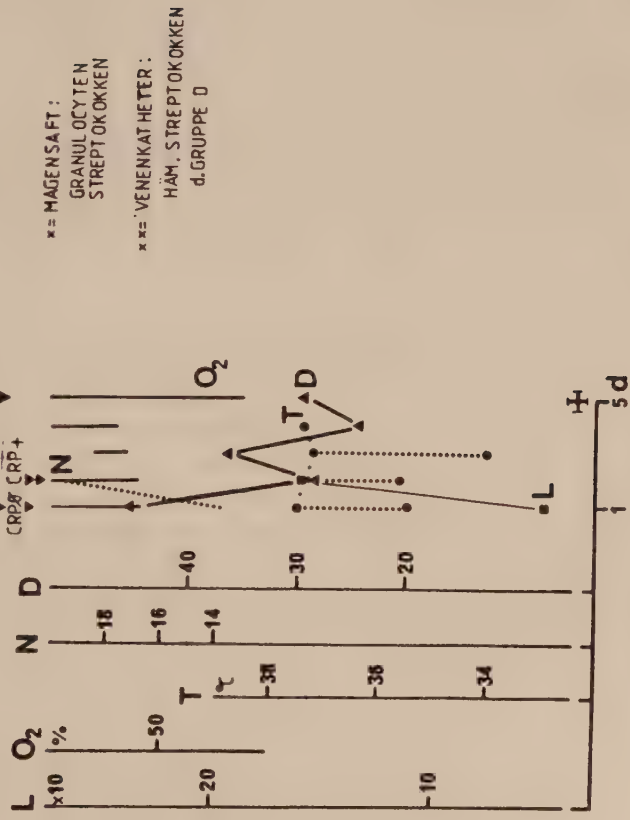
Bei erheblichen Temperaturschwankungen zwischen 34 und 37 °C, positivem CRP-Nachweis am 2. Tag und einem auf 1,37 ansteigendem Neutrophilen-Index wurde ein Sauerstoffzufuhr von bis zu 100 % erforderlich.

Beurteilung:

In Korrelation zu den klinischen Infektionsparametern ist der Nachweis von einem pathologisch erhöhten Anteil von degranulierten Zellen ein Hinweis auf eine massive Infektion des Kindes. Das Kind verstarb am 5. Tag postpartal.

SMI ♀ SSW 27 Sturzgeburt Apgar 3/4/8 Geb. Gewicht 980g

BAYEN LERNBECKEN U. FRISCHBLUT



L = Leukocytenzahl
 O₂ = Sauerstoffzufuhr
 T = Temperatur
 N = Stabkernige : Neutrophile Granulocyten
 D = Degranulierte Granulocyten in %
 — = Antibiotika
 t = Beginn — Stop
 ▼ CRP - CRP negativ
 ▼ CRP + = CRP positiv
 d = Tag

3.1.1.2. S. M. II. 28. SSW., Geb.-Gewicht 800 g, feminin

Geburt:

Das Kind wurde in der 28. SSW wegen Praeklampsie der Mutter und drohender kindlicher Asphyxie mittels Sektio caesarea entbunden. Bei APGAR-Werten von 2 wurde eine Intubation erforderlich.

Mikrobiologie:

Im Tubuswasser konnte am 13. und 15. Tag massenhaft Granulozyten nachgewiesen werden. Zusätzlich fanden sich im Nasenabstrich am 20. Tag Enterokokken und im Rachenabstrich am 28. Tag Staphylococcus aureus.

Therapie:

Seit der Geburt bis zum 72. Tag wurde das Kind antibiotisch mit Baypen und Gernebcin, später mit Mandocef und Erythrocin behandelt. Zusätzlich erhielt das Kind am 22. Tag und 73. Tag Immunglobuline, am 22. Tag Indomethacin sowie mehrfach Erythrozytenkonzentrate.

Differentialblutbild mit PIC-Färbung:

Bei diesem Kind wurde über einen Zeitraum von 12 Wochen das mit PIC angefärbte Blutbild kontrolliert. Nach einem anfangs erhöhten Wert von 18 % degranulierten Zellen sank der Anteil nach 2 Tagen auf Normalwerte und erreichte am 24. Tag nurmehr 5 %. Der rapide Anstieg auf 18 % am 26. Tag hatte möglicherweise sein Korrelat in einer frischen Infektion mit Staph. aureus, der 2 Tage später im Rachenabstrich nachgewiesen werden konnte. Bei unverändert normalen Werten wurde die Untersuchung am 84. Tag abgebrochen.

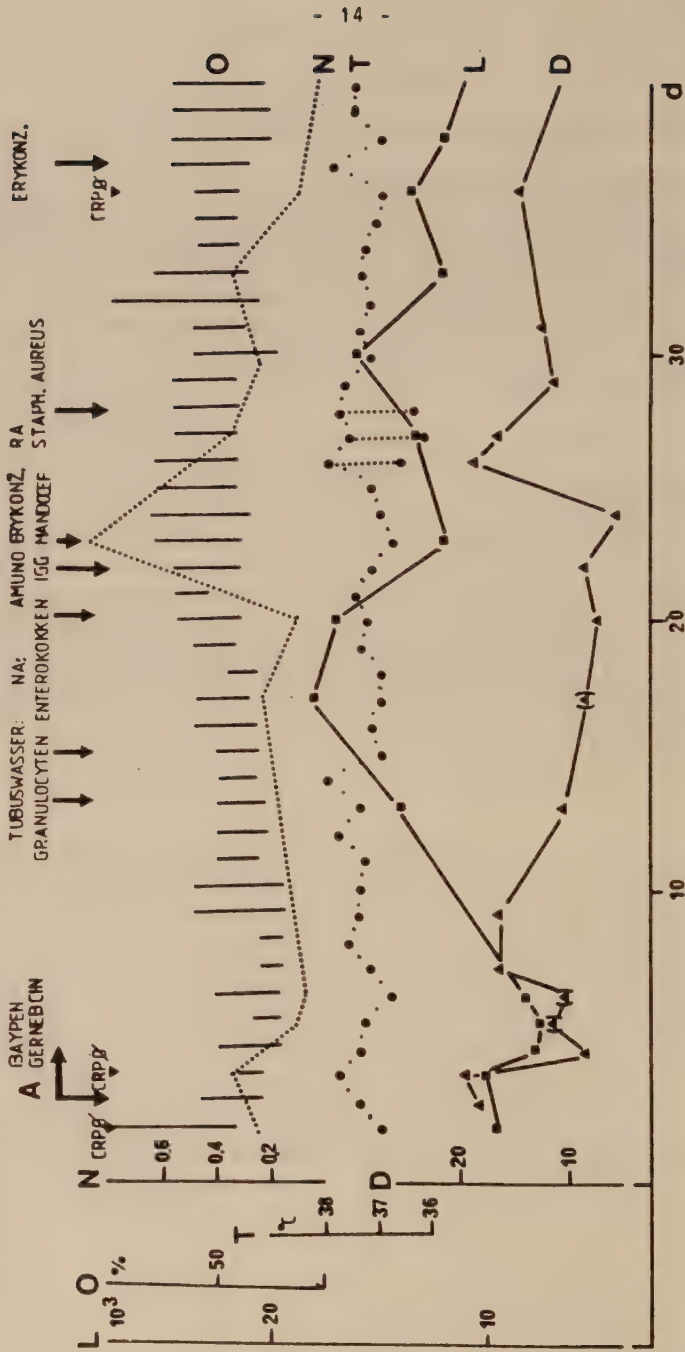
Klinische Infektionsparameter:

Bei unauffälligen Temperaturschwankungen um $- 0,5^{\circ} \text{C}$ zeigte sich eine kurzfristige Schwankung der Tagestemperatur um $- 1^{\circ} \text{C}$ am 26. bis 28. Tag. Dagegen wies ein pathologisch erhöhter Wert der Leukozyten-Ratio schon am 23. Tag auf einen möglichen Infekt hin, während eine Erhöhung der Sauerstoffzufuhr erst am 32. Tag notwendig wurde.

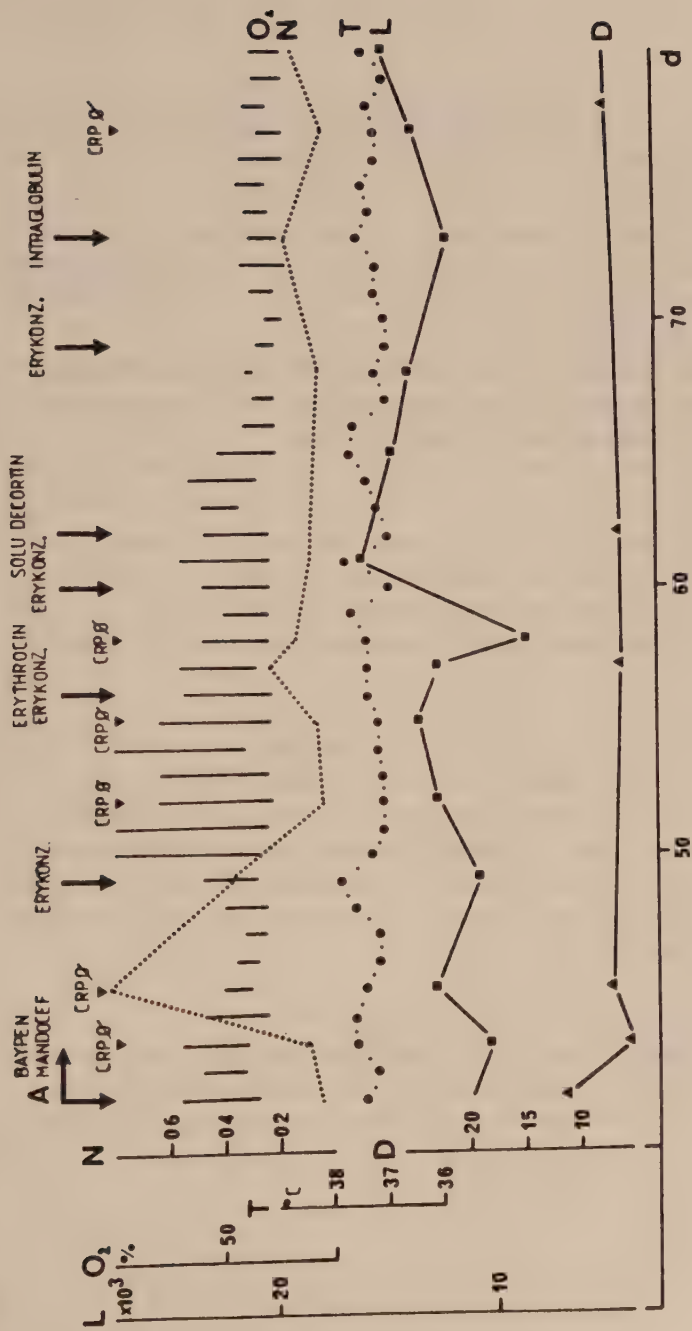
Beurteilung:

Bei guter Übereinstimmung des mit PIC gefärbten Blutbildes mit den klinischen Infektionsparametern ist ein Anstieg des Neutrophilenindex am 22. Tag möglicherweise durch die Gabe von Indomethacin (5) hervorgerufen worden. Im weiteren Verlauf zeigen sich noch mehrmals Anstiege des Neutrophilenindex ohne Anhalt für eine kindliche Infektion.

S.M. ♀ SSW 28 Sektio caesarea Apgar 2/ Intubiert/8/8 Geb. Gewicht 800g



SM. Forts.



L = Leukocytenzahl.

Q = Sauerstoffzufuhr

T = Temperatur

N = Stabkernige : Neutrophile Granulocyten

D = Degranulierte Granulocyten in %

3.1.1.3. D. C. 29. SSW., Geb.-Gewicht 1.100 g, feminin

Geburt:

Wegen Nabelschnurvorfall bei Querlage musste das Kind in der 29. SSW mittels Sectio caesarea entbunden werden.

Mikrobiologie:

Im Tubuswasser wurden am 5. und 6. Tag vermehrt Granulozyten und Staph. albus sowie zusätzlich vergrünende Streptokokken am 25. Tag gefunden.

Therapie:

Vom 3. bis zum 30. Tag wurde das Kind mit Baypen und Gernebcin antibiotisch behandelt. Zusätzlich wurde am 4. und 9. Tag Warmbiut und am 29. Tag Erythrozytenkonzentrate gegeben, sowie ab 14. Tag für 3 aufeinander folgende Tage Indomethacin.

Differentialblutbild mit PIC-Färbung:

Im 6 Wochen lang mit der PIC-Färbemethode kontrollierten Blutbild sank unter der antibiotischen Therapie der Anteil der degranulierten Zellen von anfänglich 16 % auf unter 10 %. 5 Tage vor dem Auffinden der vergrünenden Streptokokken wurde ein erneuter Anstieg auf 17 % gemessen.

Klinische Infektionsparameter:

Bei zunächst erhöhter Temperatur um 38° C sank ab dem 5. Tag die Körpertemperatur auf Werte um 37,2° C ab. Am 9. Tag wurde aufgrund einer Ex- und Reintubation

eine vorübergehende Sauerstoffzufuhr von 100 % erforderlich, bei gleichzeitig deutlichem Anstieg der Leukozytenratio auf 0,46. Das CRP war stets negativ.

Beurteilung:

In Korrelation zu den klinischen Infektionsparametern findet sich beim Auftreten von pathogenen Keimen ein Anstieg des Anteils der degranulierten Zellen in den pathologischen Bereich auch unter antibiotischer Therapie. Der Anstieg der Leukozyten am 10. Tag ist möglicherweise auf eine vorausgegangenen Frischbluttransfusion zurückzuführen.

3.1.1.4. W. S. 31. SSW., Geb.-Gewicht 870 g, feminin

Geburt:

Das Kind wurde in der 31. SSW wegen massiver Blutungen und vorzeitigen Wehen mittels Sektio caesarea entbunden. Bei APGAR-Werten von 4 / 8 / 8 wurde eine Intubation erforderlich.

Mikrobiologie:

Am 11. Tag wurde im Rachenabstrich Staphylococcus albus gefunden.

Therapie:

Seit Geburt wurde das Kind prophylaktisch mit Baypen, Gernebcin oder ersatzweise mit Mandocef oder Claforan antibiotisch behandelt. Am 26. Tag wurde das Kind wegen eines persistierenden Ductus Botalli arteriosus in das Deutsche Herzzentrum München verlegt, wo eine Ductusligatur vorgenommen wurde, und zwei Tage später wieder in die Kinderpoliklinik zurückverlegt.

Differentialblutbild mit PIC-Färbung:

Nach anfänglichen Schwankungen, fand sich 3 Tage vor Auffindung der Staphylokokken im Rachenabstrich ein erhöhter Wert von 20 % degranulierten Granulozyten. Am 22. Tag, 4 Tage vor der Überweisung in das Herzzentrum, konnte ein Wert von 30 % degranulierten Granulozyten nachgewiesen werden. Die Untersuchung wurde am 35. Tag abgebrochen, ohne daß es einen weiteren Hinweis für einen frischen Infekt gegeben hätte.

Klinische Infektionsparameter:

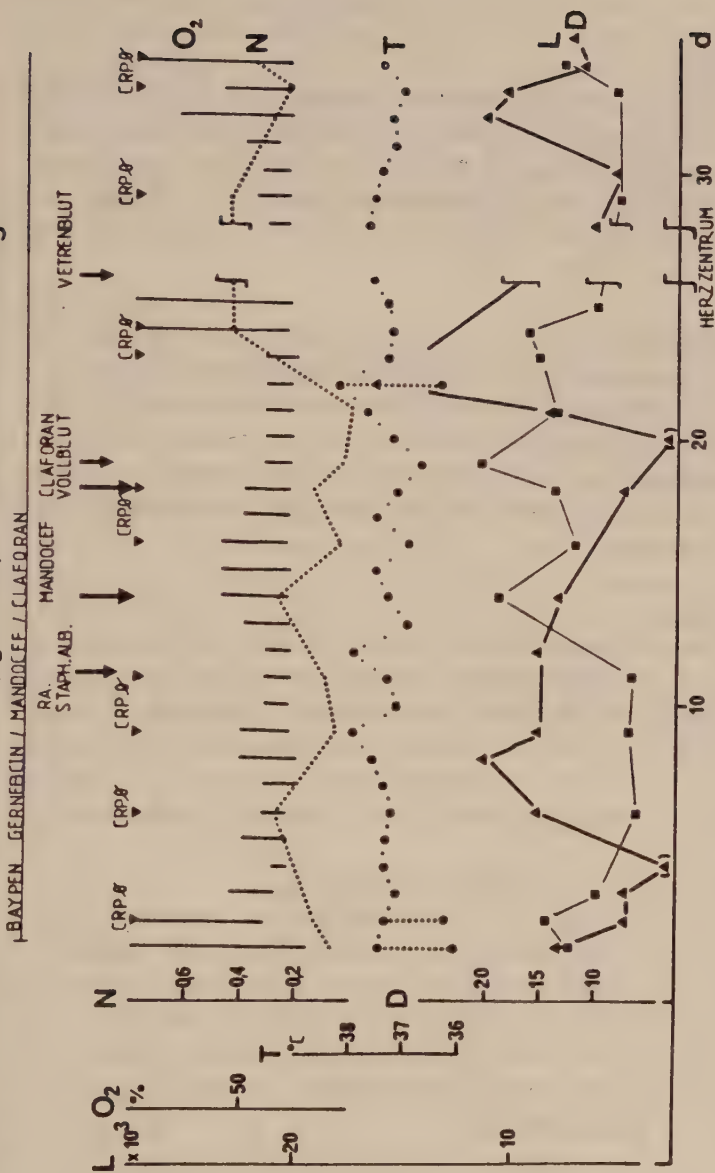
Bei sonst mäßigen Temperaturschwankungen zeigte sich außer an den beiden ersten Lebenstagen am 22. Tag eine Temperaturänderung von $\pm 0,95^{\circ}$ C. Die Leukozyten-Ratio stieg erst nach dem 22. Tag auf einen pathologisch erhöhten Wert von 0,45 an. Die Sauerstoffzufuhr betrug während dieser Zeit bis zu 100 %, pathologisch erhöhte CRP-Werte konnten nicht nachgewiesen werden.

Beurteilung:

Die mit PIC gefärbten Blutausstriche korrelieren gut mit den klinischen Parametern, entsprechend einer Staphylokokken-Infektion am 11. Tag. Der erhöhte Wert am 22. Tag kann nicht auf eine mikrobielle Infektion zurückgeführt werden und ist möglicherweise Ausdruck einer Streßsituation bei einem bevorstehenden operativen Eingriff.

W.S. ♀ SSW 31 Sektio caesarea Apgar 4/8/8 Geb. Gewicht 870g

- 21 -



L = Leukocytenzahl
 O₂ = Sauerstoffzufuhr
 T = Temperatur
 N = Stabkernige : Neutrophile Granulocyten
 D = Degranulierte Granulocyten in %

— = Antibiotika — Beginn — Stop
 ▼ CRP- = CRP negativ
 ▲ CRP+ = CRP positiv
 ↗ Entlassen
 └ = Verlegt

d = Tag
 Ra = Rachenabstrich
 Na = Nasenabstrich
 () = Blut geronnen

3.1.1.5. E. G. 31. SSW., Geb.-Gewicht 1.630 g, feminin

Geburt:

Bei vorzeitigem Blasensprung, Abgang von übelriechendem Fruchtwasser, Leukozytose der Mutter und Verdacht auf eine aufsteigende Infektion wurde eine Sektio caesarea durchgeführt. Wegen APGAR-Werten von 3 / 4 / 9 und Verdacht auf eine Fruchtwasseraspiration mußte das Kind intubiert werden.

Mikrobiologie:

Am 1. Tag wurden Epithelien im Magensaft gefunden, entsprechend einer Fruchtwasseraspiration. Am 12. Tag wurde Staphylococcus albus an der Tubusspitze und am 16. Tag grampositive Haufenkokken im Tubuswasser sowie Staphylococcus albus und Enterokokken im Rachenabstrich nachgewiesen.

Therapie:

Bei dieser Konstellation wurde das Kind vom 1. bis zum 37. Tag antibiotisch mit Baypen, Gernebcin oder im Austausch mit Mandocef oder Penicillin behandelt. Am 17., 18. und 23. Tag erhielt es Indomethacin und am 26., 31. und 32. Tag Gammaglobuline. Zusätzlich erhielt das Kind mehrmals Warmlut und Erythrozytenkonzentrate.

Differentialblutbild mit PIC-Färbung:

Die über 58 Tage, mit PIC-Färbemethode kontrollierten Blutausstriche schwankten in den ersten zehn Lebenstagen bei Verdacht auf Fruchtwasserinfektion und Fruchtwasseraspiration zwischen Werten von 7 % bis 22 % degranulierter Granulozyten; unter antibiotischer Therapie waren bald nur noch Werte im physiologischen Bereich nachweisbar.

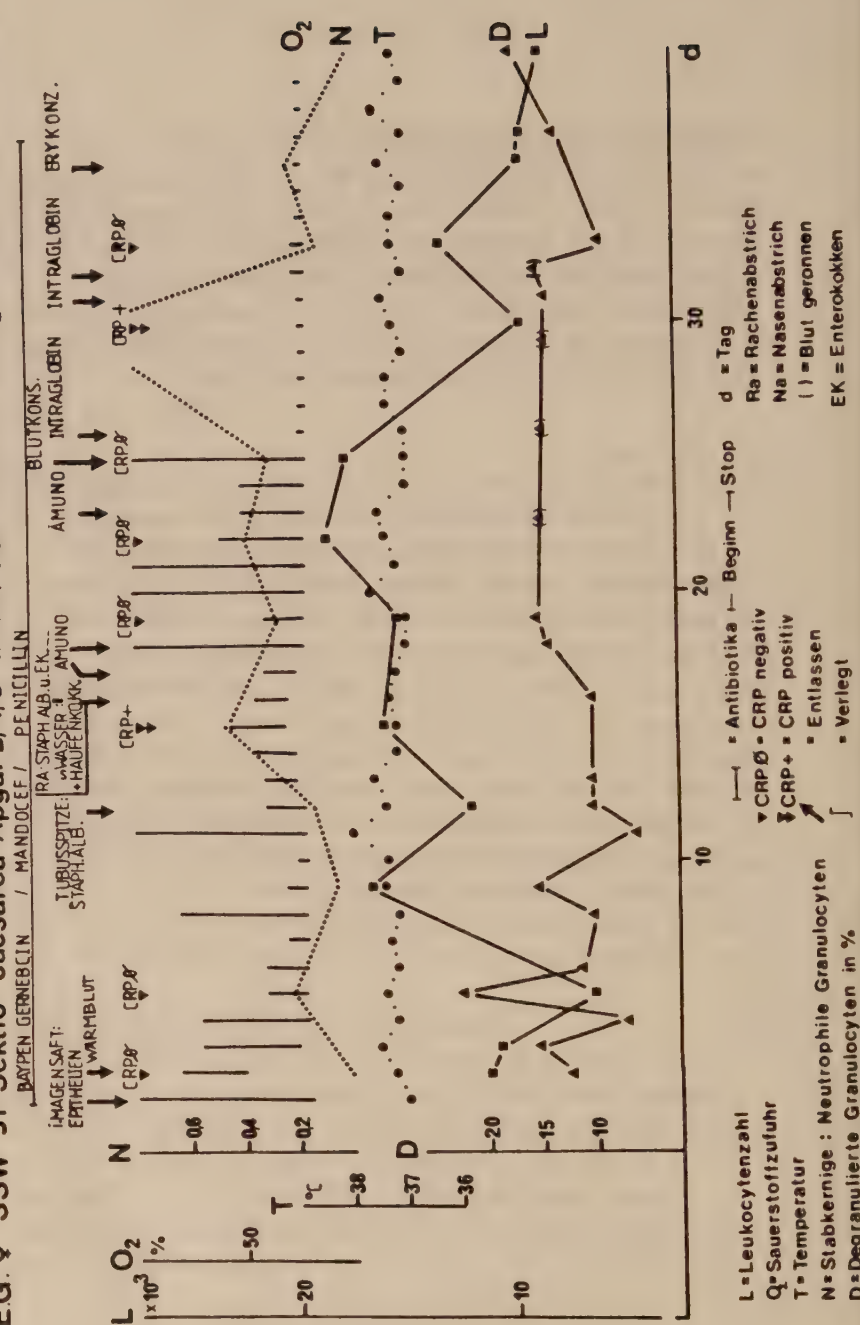
Klinische Infektionsparameter:

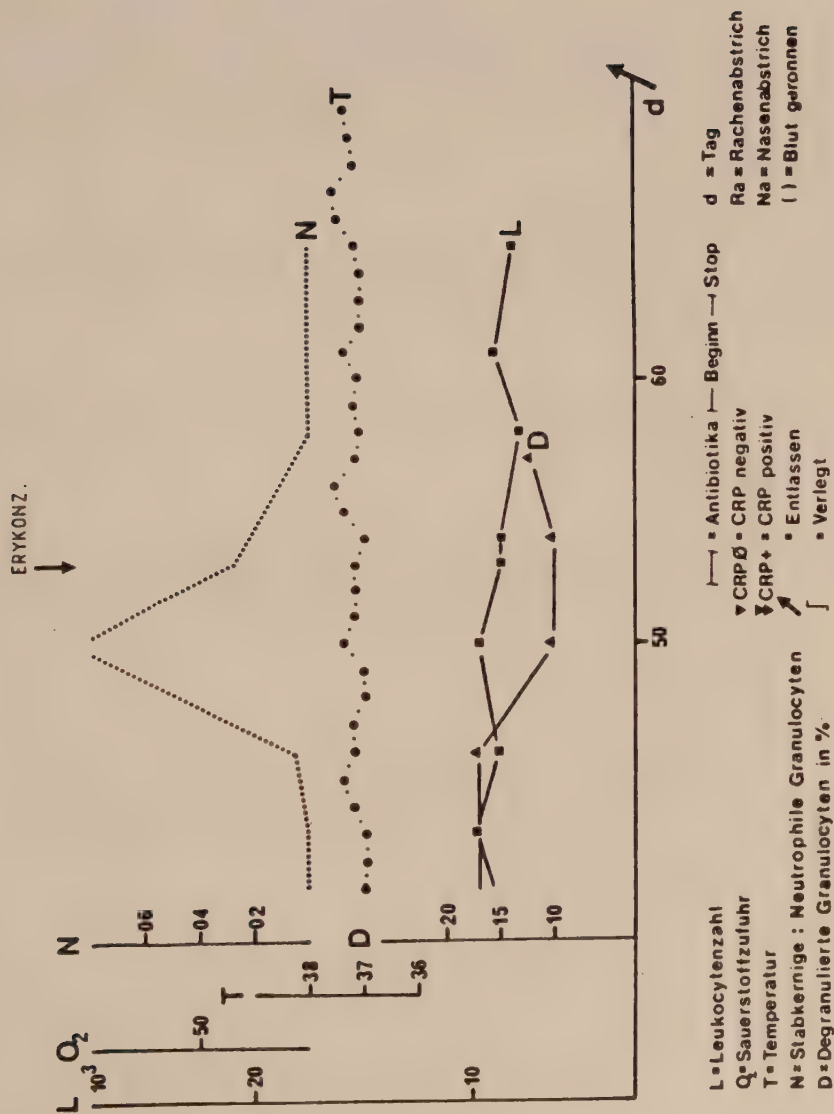
Die Leukozytenratio zeigte ab dem 15. Tag unter Amunotherapie stets erhöhte Werte, die am 30. Tag bis zu einem Wert von 1 anstiegen. Am 15. und am 30. Tag konnte auch CRP nachgewiesen werden. Die Sauerstoffzufuhr mußte erst am 18., 20., 21., und 25. Tag erhöht werden, die Temperatur war gleichbleibend zwischen 37 - 37,5° C.

Beurteilung:

Der erhöhte Anteil der degranulierten Leukozyten im mit PIC gefärbten Blutaussstrich und die erniedrigte Leukozytenzahl am 5. Tag weisen übereinstimmend auf eine Infektion in den ersten Lebenstagen hin. Nach antibiotischer Therapie findet sich eine Normalisierung des Verhältnisses der degranulierten zu den granulierten Granulozyten ab dem 6. Tag. Zusätzlich läßt sich ein Anstieg der degranulierten Granulozyten nach Absetzen der Therapie beobachten. Zwischen dem 15. und 30. Tag besteht ein Verdacht auf eine Infektion bei pathologisch erhöhten Infektionsparametern. Wegen mehrfach geronnener Blutproben konnte der Blutaussstrich nicht sicher verwertet werden.

EG. 9 SSW 31 Sektio caesarea Apgar 3/4/9 Intub. Geb Gewicht 1630g Aspirationsverdacht





3.1.1.6. L. E. 36. SSW., Geb.-Gewicht 2.000 g, feminin

Geburt:

Das Kind wurde mittels Sektio caesarea bei Eklampsie der Mutter entbunden. Postpartal bestand der Verdacht auf eine Infektion und eine Hirnblutung bei gehäuft auftretenden Apnoe-Anfällen. Das Kind wurde am 5. postpartalen Tag in die Kinderpoliklinik überwiesen.

Mikrobiologie:

Am 5. Tag waren im Magensaft Epithelzellen und im Liquor vereinzelt Granulozyten zu finden. Am 14. Tag wurden im Rachenabstrich vergrünende Streptokokken nachgewiesen.

Therapie:

Ab dem 3. Tag bis zum 11. Tag erhielt das Kind Baypen und Gernebcin.

Differentialblutbild mit PIC-Färbung:

Ab dem 1. Tag der Untersuchung fanden sich deutlich erhöhte Anteile von degranulierten Granulozyten, bis zu 21 %, die ab dem 15. Tag kontinuierlich auf Werte um 10 % zurückgingen.

Klinische Infektionsparameter:

Am 8. und 12. Tag wurde eine erhöhte Leukozytenratio festgestellt, das CRP war nur am 3.Tag schwach positiv. Die Temperatur und die Sauerstoffzufuhr lagen im Normbereich.

Beurteilung:

Die ab dem 5. Tag nachweisbare Erhöhung des Anteils der degranulierten Granulozyten korreliert mit einer verzögert ansteigenden Neutrophilenratio. Bei den im Rachenabstrich nachgewiesenen Streptokokken handelt es sich möglicherweise um eine lokale Infektion, die keine pathologische Veränderung der klinischen Infektionsparameter zur Folge hatte.

3.1.1.7. M.C. 36. SSW., Geb.-Gewicht 1.900 g, masculin

Geburt:

Bei dem Kind handelte es sich um eine Spontangeburt mit einer Seropositiven Lues connata, Hepatomegalie und erheblicher Dyspnoe.

Mikrobiologie:

Bei Geburt fand sich ein deutlich positiver FTA-ABS-Test und spurenweise IgM al Hinweis auf eine frische Treponema pallidum Infektion.

Therapie:

Das Kind wurde von Geburt an antibiotisch mit Iso-cillin, Baypen und Gernebcin behandelt und erhielt zusätzlich in der zweiten Woche Gammaglobuline.

Differentialblutbild mit PIC-Färbung:

Bei Beginn der Untersuchung waren 60 % degranulierte Granulozyten nachweisbar, die sich ab dem 10. Tag auf Werte um 10 % näherten und bis zur Entlassung des Kindes am 33. Tag im Normbereich blieben.

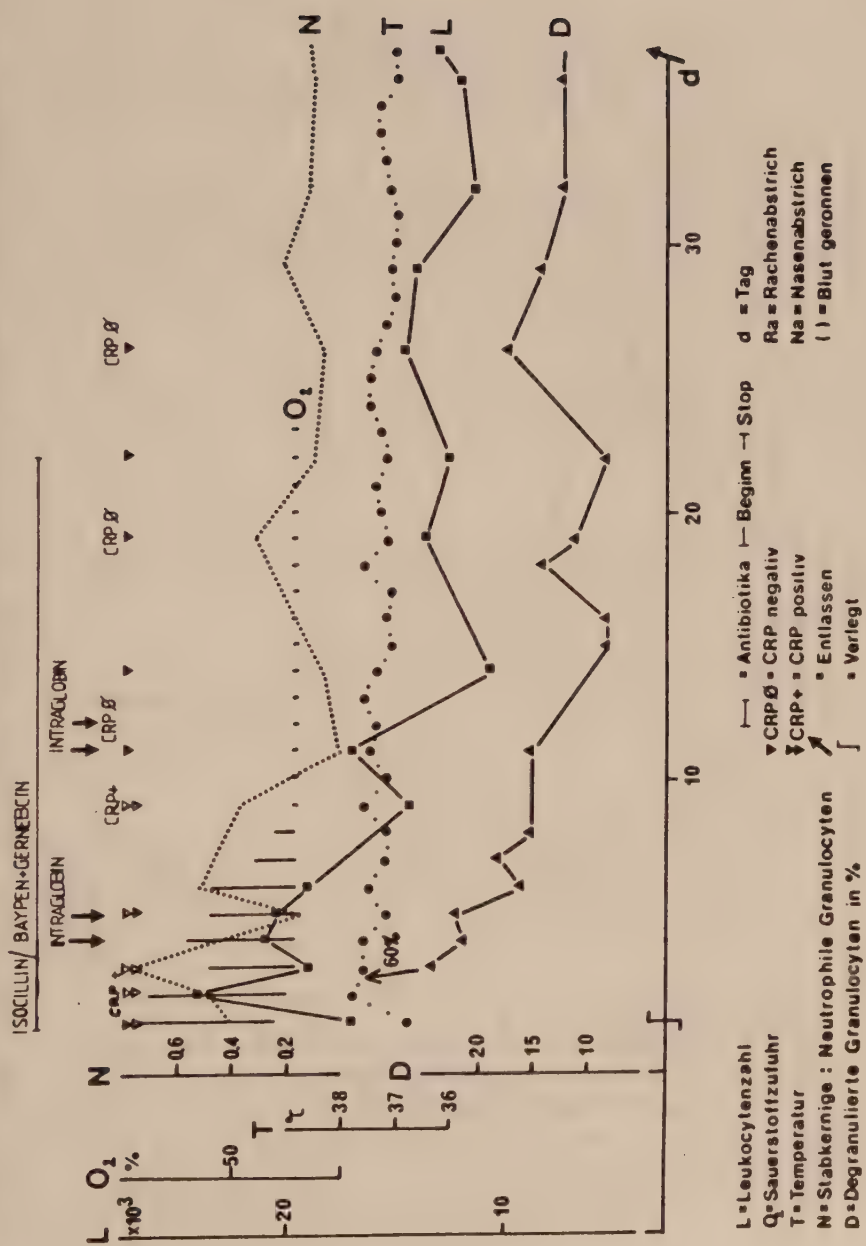
Klinische Infektionsparameter:

Innerhalb der ersten 10 Tage war ein bis zu 0,75 erhöhter Leukozytenindex, sowie positives CRP bei erhöhtem Sauerstoffbedarf, aber unauffälliger Körpertemperatur nachweisbar.

Beurteilung:

Bei dem Kind handelt es sich um eine serologisch nachgewiesene Lues connata. Dementsprechend findet sich ein erhöhter Anteil an degranulierten Granulozyten im Blutbild, der unter antibiotischer Therapie innerhalb von 10 Tagen auf Normalwerte zurückgeht. Auch in diesem Fall befindet sich eine gute Korrelation mit den übrigen klinischen Infektionsparametern.

M.C. ♂ SSW 36 Spontan Apgar 6/8/10 Geh.Gewicht 1900g Lues connata



3.1.2. Kinder ohne Infektion

3.1.2.1. E. S. 33. SSW., Geb.-Gewicht 1.770 g, masculin

Geburt:

Das Kind wurde mittels einer Sektio caesarea in der 33. SSW wegen Cervixinsuffizienz bei Uterus duplex in Beckenendlage entbunden. Der Blasensprung fand 72 Stunden präpartal statt. Bei der Mutter war eine Leukozytose ohne Fieber bekannt.

Mikrobiologie:

Am 3. Tag wurden im Tubuswasser einige Granulozyten gefunden.

Therapie:

Vom 1. Tag bis zum 7. Tag erhielt das Kind prophylaktisch Baypen und Gernebcin.

Differentialblutbild mit PIC-Färbung:

Bei den über die Dauer von 26 Tagen kontrollierten Blutbildern ergaben sich keine pathologisch erhöhten Werte.

Klinische Infektionsparameter:

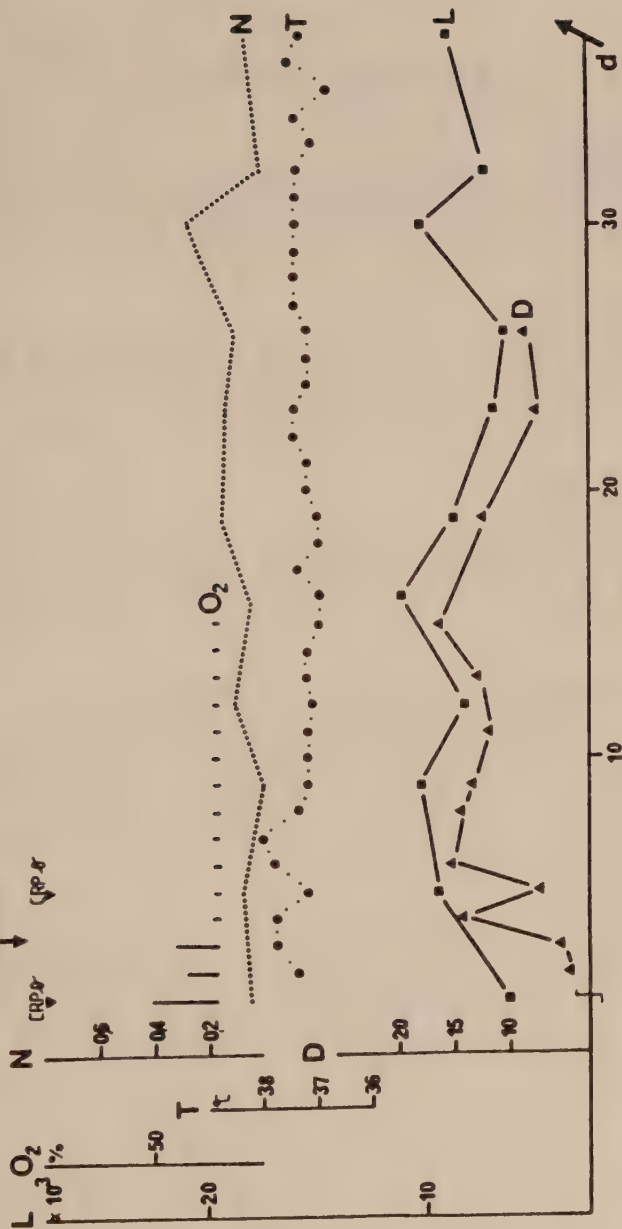
Anfänglich zeigten die Temperaturwerte geringe Schwankungen. 7 Tage vor Entlassung stieg der Neutrophilenindex einmalig auf 0,27 an.

Beurteilung:

Im Vergleich der klinischen Infektionsparameter mit den mit PIC angefärbten Blutbildern ergeben sich übereinstimmend keine Hinweise für eine Infektion des Kindes. Retrospektiv war die Antibiotikatherapie rein prophylaktisch.

ES. ♂ SSW 33 Sektio caesarea Apgar 9/10/10 Geb. Gewicht 1770g Blasensprung 72^h

PAVEN GERMICIN
 i. TUBUSWASSER
 GRANULOCYTEN



L = Leukocytenzahl
 O₂ = Sauerstoffzufuhr
 T = Temperatur
 N = Stäbchenige : Neutrophile Granulocyten
 D = Degranulierte Granulocyten in %
 CRP = CRP positiv
 CRP = CRP negativ
 Antibiotika
 Stop
 Beginn
 Tag
 Ra = Rachenabstrich
 Na = Nasenabstrich
 () = Blut geronnen
 Entlassen
 Verlegt

3.1.2.2. G. T. 34. SSW., Geb.-Gewicht 1.790 g, feminin

Geburt:

Diese Kind wurde in der 34. SSW. bei vorzeitiger Wehentätigkeit bei Beckenendlage entbunden. Eine Intubation wurde erforderlich.

Mikrobiologie:

Am 7. Tag waren im Tubuswasser Granulozyten und gram-positive Haufenkokken zu finden. Am 42. Tag wurden in der Nase Granulozyten und Staph. aureus nachgewiesen.

Therapie:

Vom 1. Tag bis zum 12. Tag wurde das Kind mit Baypen und Gernebcin antibiotisch behandelt. Ab dem 27. Tag erhielt es 6 Tage lang Polyspectran Augensalbe in das linke Auge.

Differentialblutbild mit PIC-Färbung:

Bei der Blutbildkontrolle mit der PIC-Färbemethode ergaben sich während der 54 Tage keine Hinweise für eine Infektion. Nach anfänglich größeren Schwankungen im Normbereich stellte sich ab dem 10. Tag ein kontinuierlicher Wert um 10 % ein.

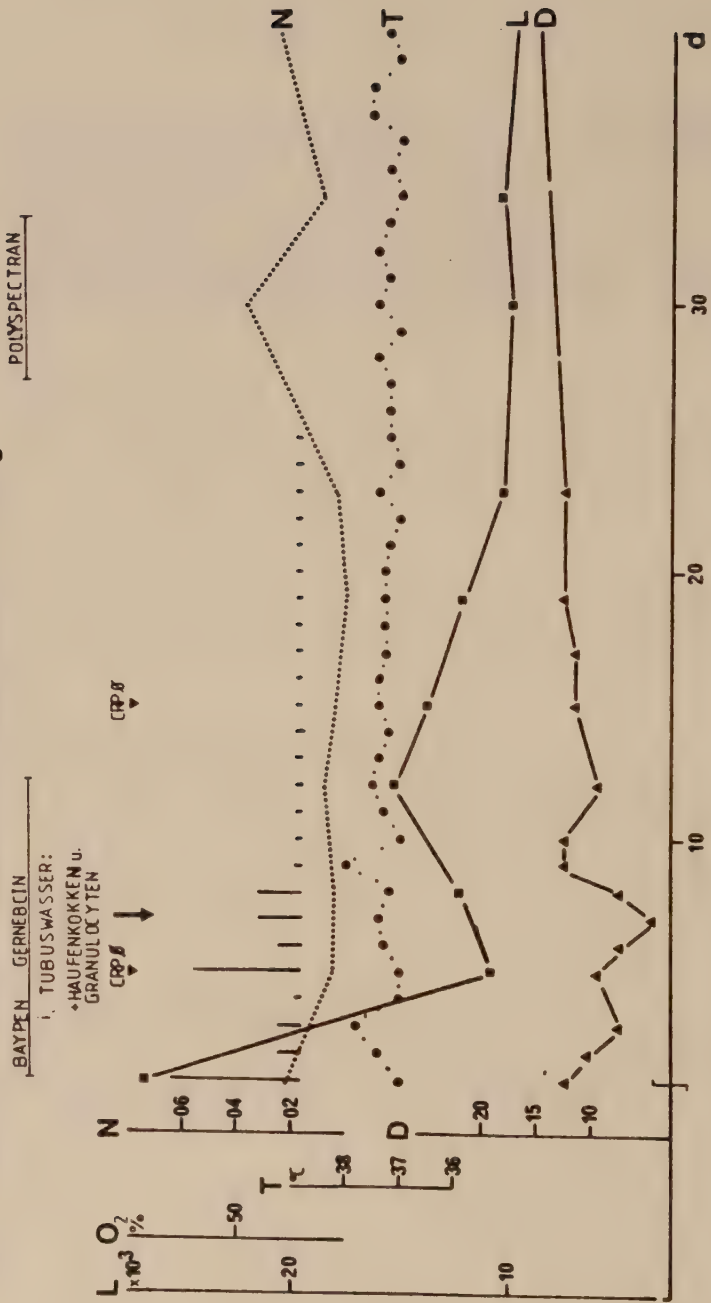
Klinische Infektionsparameter:

Die klinischen Parameter zeigten einen unauffälligen Verlauf, nur die Leukozytenratio stieg kurzfristig am 30. und 41. Tag auf einen Wert über 0,2 an

Beurteilung:

Unter der prophylaktisch durchgeführten Therapie ergibt sich weder aufgrund der Parameter noch der Differentialblutbilder ein Hinweis für eine systemische Infektion. Bei den nachgewiesenen Keimen handelt es sich vermutlich um eine lokale Infektion, die zu keinem pathologischen Anstieg der Infektionsparameter führt.

G.T. ♀ SSW 34 Spontan Apgar 6/9/9 Geb. Gewicht 1790g

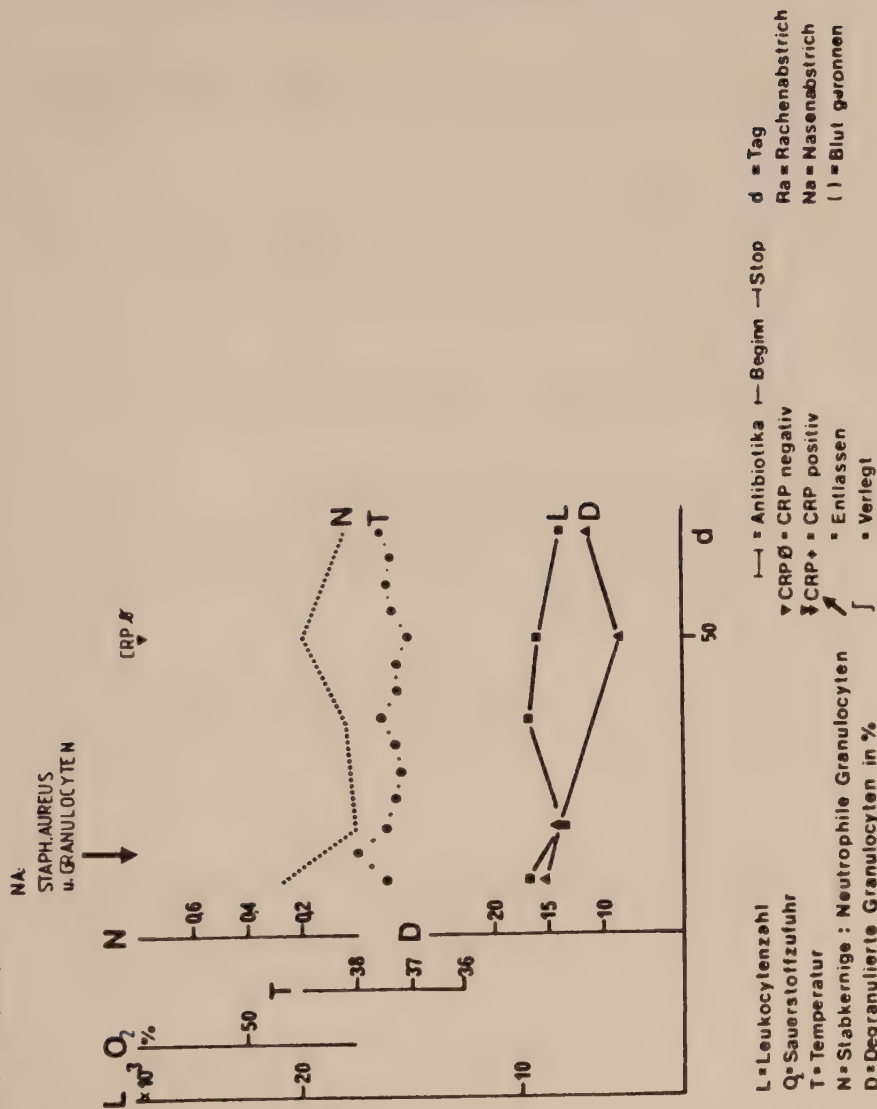


L = Leukocytenzahl
Q = Sauerstoffzufuhr
T = Temperatur
N = Stabkernige : Neutrophile Granulocyten
D = Degranulierte Granulocyten in %

Antibiotika = Antibiotics
CRP Ø = CRP negativ
CRP + = CRP positiv
Entlassen = Discharge
Verlegt = Admitted

d = Tag
Ra = Rachenabstrich
Na = Nasenabstrich
I = Blut gezogen

G.T. Forts.



3.1.2.3. D.V. 37. SSW, Geb.-Gewicht 2.790 g. feminin

Geburt:

Das Kind wurde nach 36 Stunden zurückliegendem Blasensprung spontan geboren.

Mikrobiologie:

Am 1. Tag wurden vermehrt Granulozyten im Magensaft gefunden. Im Nasen-, Rachen- und Ohrabstrich fanden sich keine pathogenen Keime.

Therapie:

Vom 1. bis 8. Tag erhielt das Kind prophylaktisch Baypen und Gernebcin

Differentialblutbild mit PIC-Färbung

Während des Beobachtungszeitraums fanden sich eine physiologische Schwankung der degranulierten Granulozyten von 5 - 14 %.

Klinische Infektionsparameter

Nach einer zunächst deutlich erhöhten Leukozytenratio am 1.Tag von 0,7 fanden sich im weiteren Verlauf keine pathologischen Infektionshinweise.

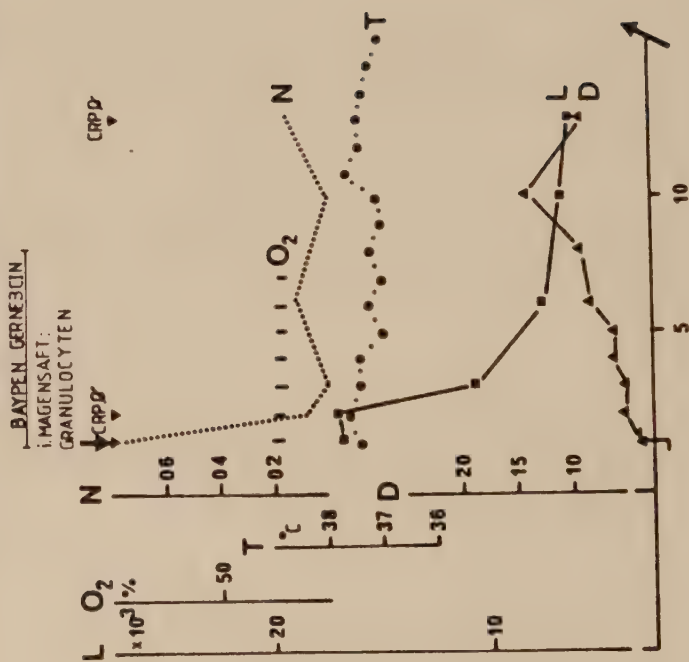
Beurteilung:

Bei Zustand nach vorzeitigem Blasensprung besteht zunächst klinisch der Verdacht auf eine Infektion, es ist auch eine deutlich erhöhte Leukozytenratio nachweisbar.

Obwohl kein pathologischer Keim nachgewiesen werden konnte, erhielt das Kind prophylaktisch Antibiotika. Unter dieser Therapie ergibt sich kein Hinweis mehr auf eine Infektion wobei die mit PIC gefärbten Blutbilder gut mit den anderen klinischen Parametern korrelieren.

D.V. ♀ SSW 37 Spontan Apgar 9/10/10 Geb. Gewicht 2790g Blasensprung 36^h

V.a. Infektion



L = Leukocytenzahl
 Q = Sauerstoffzufuhr
 T = Temperatur
 N = Stabkernige : Neutrophile Granulocyten
 D = Degranulierte Granulocyten in %

3.1.3. Kinder mit fraglicher Infektion

3.1.3.1. S. J, 34. SSW., Geb.-Gewicht 2.210 g, feminin

Geburt:

Das Kind wurde mittels einer Spiegelgeburt bei einem 48 Stunden zurückliegenden Blasensprung und Leukozytose der Mutter entbunden.

Mikrobiologie:

Am 1. Tag fanden sich im Magensaft Epithelien. Am 14. Tag waren im Urinsediment massenhaft Bakterien zu finden.

Therapie:

Vom 3. Tag bis zum 9. Tag erhielt das Kind Baypen und Gernebcin.

Differentialblutbild mit PIC-Färbung.

Der Anteil der degranulierten Granulozyten sank von 17 % am 1. Tag auf einen unauffälligen Wert um 10 % am 4. Tag und stieg vorübergehend am 24. Tag bis auf 20 % an.

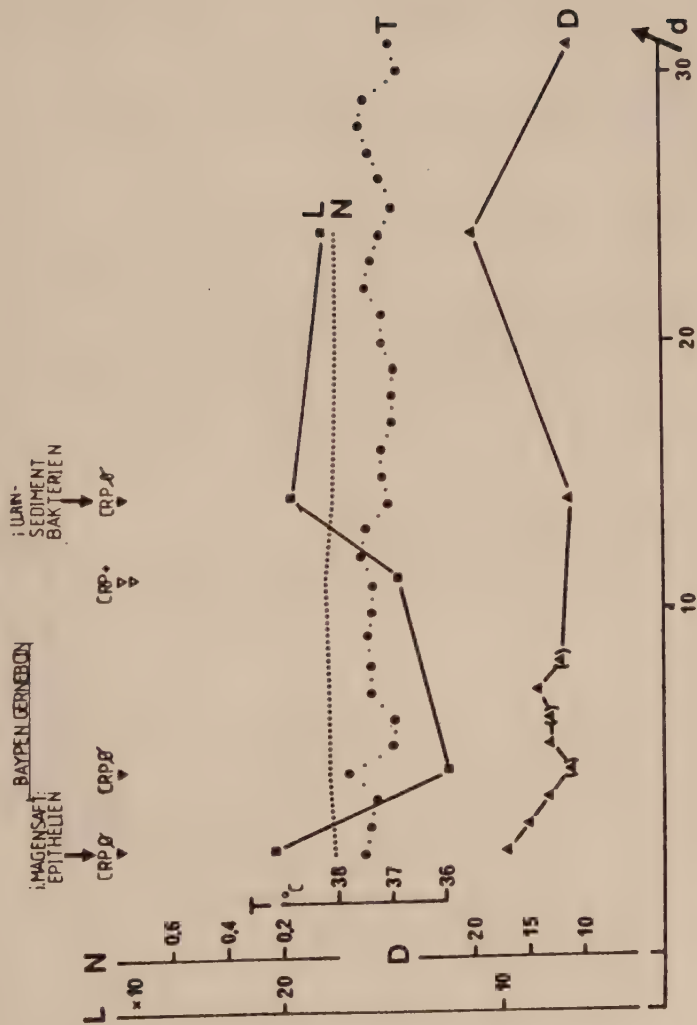
Klinische Infektionsparameter:

Die klinischen Infektionsparameter verhielten sich insgesamt unauffällig, mit Ausnahme eines positiven CRP-Nachweises am 11. Tag.

Beurteilung:

Bei anfänglich guter Korrelation der klinischen Infektionsparameter mit den mit PIC gefärbten Blutbildern und ohne Nachweis von pathologischen Erregern findet sich am 24. Tag ein einmalig erhöhter Wert. Es handelt sich hierbei um einen Einzelwert, der ohne Zusammenhang mit der klinischen Gesamtsymptomatik kritisch zu betrachten ist und möglicherweise durch eine mechanische Alteration bei der Blutentnahme hervorgerufen wurde.

S.J. ♀ SSW 34 Spontan Apgar 10/10/10 Geb.Gewicht 2210g Blasenprung 48^h



L = Leukocytenzahl

Q = Sauerstoffzufuhr

T = Temperatur

N = Stabkernige : Neutrophile Granulocyten

D = Degranulierte Granulocyten in %

3.1.3.2. C. G. 37. SSW., Geb.-Gewicht 2.500 g, feminin

Geburt:

Das Kind wurde spontan geboren, bei einem 31 Stunden zurückliegenden Blasensprung.

Mikrobiologie:

Im Magen und Ohr waren am 1. Tag Staph. epidermidis nachweisbar.

Therapie:

Eine Therapie wurde nicht durchgeführt.

Differentialblutbild mit PIC-Färbung:

Der PIC gefärbte Blutaussstrich zeigte nach unauffälligem Beginn am 7. Tag eine erhöhte Anzahl von degranulierten Granulozyten, die bis zur Entlassung des Kindes zwischen Werten von 11 % bis 16 % schwankten.

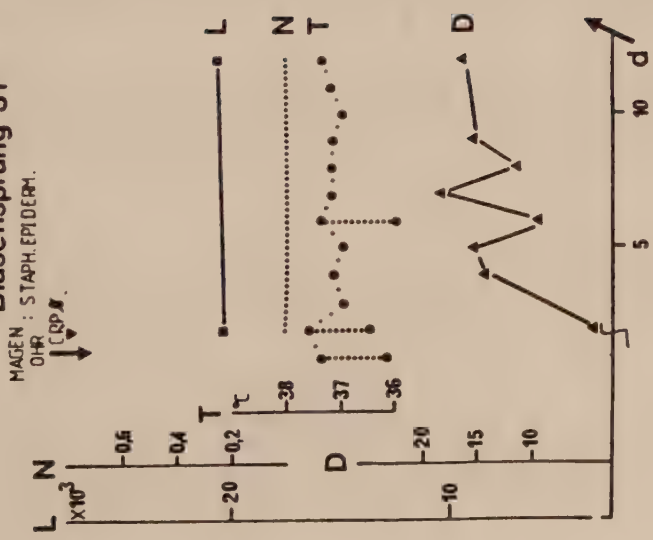
Klinische Infektionsparameter:

Außer Temperaturschwankungen am 1., 2. und 6. Tag von $\pm 0,7^{\circ}$ C waren Leukozytenzahl und Leukozytenratio unauffällig.

Beurteilung:

Obwohl sich klinisch kein eindeutiger Anhalt für eine Infektion des Kindes ergibt, kann neben einer Temperaturschwankung von $\pm 0,7^{\circ}$ C eine deutliche Erhöhung des Anteils der degranulierten Granulozyten gemessen werden. Diese Werte sind möglicherweise auf eine Degranulation der Granulozyten aufgrund einer Immunreaktion ohne Zellerstörung zurückzuführen (8,13).

C.G. ♀ SSW 37 Spontan Apgar 9/10/10
Geb Gewicht 2500g
Blasensprung 31h



L = Leukocytenzahl
Q = Sauerstoffzufuhr
T = Temperatur
N = Stabkernige : Neutrophile Granulocyten
D = Degranulierte Granulocyten in %

A = Antibiotika
CRP - CRP negativ
CRP + = CRP positiv
Entlassen
Verlegt

d = Tag
Ra = Rachenabstrich
Na = Nasenabstrich
() = Blut geronnen

3.1.3.3. S. E. 37. SSW., Geb.-Gewicht 2.330 g, feminin

Geburt:

Bei dem Kind handelte es sich um eine Spontangeburt, bei der der Blasensprung wahrscheinlich einige Tage vorher stattfand. Bei der Mutter war eine EPH-Gestose bekannt.

Mikrobiologie:

Kein Nachweis von pathologischen Keimen.

Therapie:

Das Kind erhielt ab dem 16. Tag mit ein- bis zweitägigen Unterbrechungen bis zum 23. Tag Nasivin Tropfen. Eine antibiotische Therapie wurde nicht durchgeführt.

Differentialblutbild mit PIC-Färbung:

Nach einem anfänglich mit 19 % erhöhtem Wert findet sich im gesamten Beobachtungszeitraum kein pathologisch erhöhter Anteil der degranulierten Granulozyten.

Klinische Infektionsparameter:

Mit Ausnahme von Temperaturschwankungen am 1. und 5. Tag von maximal $\pm 0,8^{\circ}\text{C}$ waren die anderen klinischen Infektionsparameter unauffällig.

Beurteilung:

Obwohl keine pathologischen Keime nachgewiesen werden können, deutet möglicherweise eine auffällige Temperaturschwankung um $\pm 0,8^{\circ}\text{C}$ auf eine Infektion hin. Dem könnte ein erhöhter Wert der degranulierten Granulozyten entsprechen. Im weiteren Verlauf jedoch normalisieren sich die Parameter auch ohne Antibiotikatherapie, so daß eine Infektion in den ersten Tagen eher unwahrscheinlich erscheint.

3.2. Kinder mit einer Tragezeit von 38 bis 40 Wochen

3.2.1. Kinder ohne Infektion

3.2.1.1. B. B., 39. SSW., Geb.-Gewicht 3.270 g, masculin

Geburt:

Das Kind kam mittels einer Spontangeburt zur Welt.

Mikrobiologie:

Kein Nachweis von pathologischen Keimen.

Therapie:

Keine spezielle antibiotische Therapie.

Differentialblutbild mit PIC-Färbung:

Der Anteil der degranulierten Granulozyten im mit PIC gefärbten Blutbild hielt sich im Beobachtungszeitraum im Normbereich.

Klinische Infektionsparameter:

Bei den klinischen Parametern war ein auffälliger Leukozytenabfall um 50 % vom 2. auf den 4. Tag zu messen. Sonstige Infektionsparameter ergaben keinen Anhalt auf eine frische Infektion.

Beurteilung:

In Korrelation mit den klinischen Parametern ergibt sich auch aufgrund des mit PIC gefärbten Blutbildes kein Hinweis auf eine Infektion.

3.2.1.2. P.N. 39. SSW., Geb.-Gewicht 2.900 g, feminin

Geburt:

Bei diesem Kind handelte es sich um eine Spontangeburt. Bei der Mutter war eine TBC-Erkrankung bekannt, wobei eine völlige Ausheilung in Frage stand.

Mikrobiologie:

Kein Nachweis von pathologischen Keimen.

Therapie:

Das Kind wurde am 7. Tag BCG geimpft.

Differentialblutbild mit PIC-Färbung:

Der Anteil der degranulierten Granulozyten im mit PIC gefärbten Blutbild hielt sich im Beobachtungszeitraum im Normbereich.

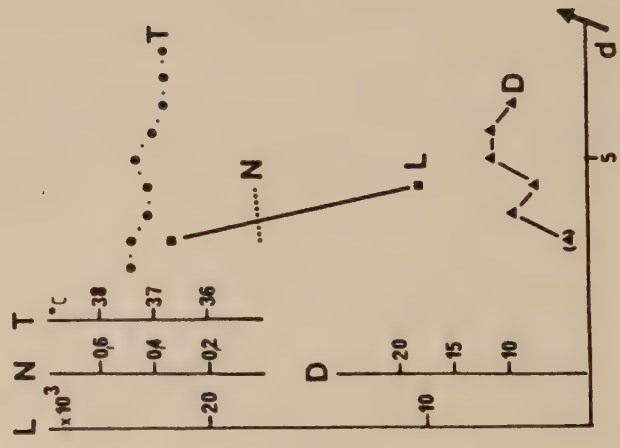
Klinische Infektionsparameter:

Der Temperaturkurvenverlauf verhielt sich unauffällig.

Beurteilung:

Weder aufgrund der Temperaturkurve noch aufgrund des mit PIC gefärbten Blutbildes ergibt sich ein Hinweis auf eine Infektion.

BB. ♂ SSW39 Spontan Apgar 7/8/10
Geb.Gewicht 3150g



L = Leukocytenzahl
Q = Sauerstoffzufuhr
T = Temperatur
N = Stabkernige : Neutrophile Granulocyten
D = Dextranulisierte Granulocyten in %

P.N. ♀ SSW 39 Spontan Apgar 9/10/10
Geb. Gewicht 2900g



A = Antibiotika ⌈ Beginn ⌋ Stop
▼ CRP ♂ = CRP negativ
⌈ CRP+ = CRP positiv
⌈ Entlassen
⌈ Verlegt
d = Tag
Ra = Rachenabstrich
Na = Nasenabstrich
() = Blut geronnen

3.2.1.3. G. M. 39. SSW., Geb.-Gewicht 3.270 g, masculin

Geburt:

Dieses Kind wurde mittelss einer Vakuumextraktion entbunden. Es bestand ein vorzeitiger Blasensprung.

Mikrobiologie:

Kein Nachweis von pathologischen Keimen.

Therapie:

Keine spezielle antibiotische Therapie.

Differentialblutbild mit PIC-Färbung:

Der Anteil der degranulierten Granulozyten im mit PIC gefärbten Blutbild hielt sich im Beobachtungszeitraum im Normbereich, wobei ein Anstieg von 5 bis 15 % nachweisbar war.

Klinische Infektionsparameter:

Der Temperaturkurvenverlauf verhielt sich unauffällig.

Beurteilung:

Weder aufgrund der Temperaturkurve noch aufgrund des mit PIC gefärbten Blutbildes ergibt sich ein Hinweis auf eine Infektion.

3.2.1.4. W.P. 39. SSW., Geb.-Gewicht 4.400 g, masculin

Geburt:

Es handelte sich bei diesem Kind um eine Spontangeburt.
Es bestand ein 35 Stunden zurückliegender Blasensprung.

Mikrobiologie:

Kein Nachweis von pathogenen Keimen.

Therapie:

Keine spezielle antibiotische Therapie.

Differentialblutbild mit PIC-Färbung.

Der Anteil der degranulierten Granulozyten hielt sich
im Beobachtungszeitraum im Normbereich.

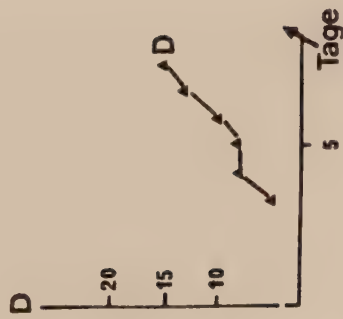
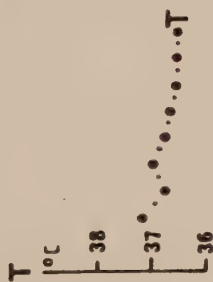
Klinische Infektionsparameter:

Der Temperaturkurvenverlauf verhielt sich unauffällig.

Beurteilung:

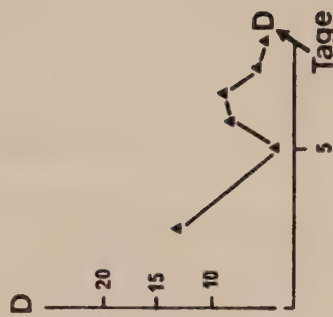
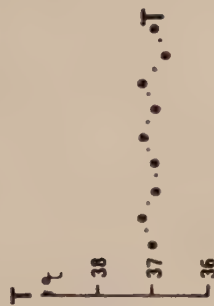
Weder aufgrund der Temperaturkurve noch aufgrund des mit
PIC gefärbten Blutbildes ergibt sich ein Hinweis auf
eine Infektion.

GM. ♂ SSW39 Vakuum Apgar9/10
Geb.Gewicht 3270g
Blasensprung vorz.



L=Leukocytenzahl
Q=Sauerstoffzufuhr
T=Temperatur
N=Stabkernige : Neutrophile Granulocyten
D=Degranulierte Granulocyten in %

WP. ♂ SSW 39 Spontan Apgar9/10
Geb.Gewicht 4400g
Blasensprung 35 h



A = Antibiotika ⌈ Beginn ⌋ Stop d = Tag
▼ CRP Ø = CRP negativ Ra = Rachenabstrich
⌈ CRP + = CRP positiv Na = Nasenabstrich
⌈ Entlassen ⌋
⌈ Verlegt ⌋

3.2.1.5. M. N. 40. SSW., Geb.-Gewicht 4.780 g, masculin

Geburt:

Es handelte sich bei diesem Kind um eine Spontangeburt.

Mikrobiologie:

Kein Nachweis von pathologischen Keimen.

Therapie:

Ab dem 1. Tag erhielt das Kind Nasivin Tropfen und wurde ab dem 5. Tag mit Pädithrocin behandelt.

Differentialblutbild mit PIC-Färbung:

Die Anteile der degranulierten Granulozyten der mit PIC gefärbten Blutbilder verhielten sich während des Beobachtungszeitraumes im Normbereich, mit Ausnahme eines einzelnen erhöhten Wertes am 11. Tag, wobei es sich hierbei um eine geronnene Blutprobe handelte.

Klinische Infektionsparameter:

Die Temperatur zeigte mäßige Schwankungen um $\pm 0,6^{\circ} \text{C}$, das CRP wurde einmalig am 5. Tag positiv nachgewiesen. Die übrigen Infektionsparameter waren unauffällig.

Beurteilung:

Aufgrund eines einmalig nachgewiesenen CRP wird am 5. Tag eine antibiotische Therapie begonnen, obwohl anhand der anderen Infektionsparameter kein Hinweis auf eine frische Infektion besteht und ein pathologischer Keim nicht nachgewiesen werden kann. Dementsprechend findet sich ein normaler Anteil der degranulierten Granulozyten; ein einmalig erhöhter Wert von 17 % ist auf die schlechte Differenzierbarkeit bei einer geronnenen Blutprobe zurückzuführen.

3.2.1.6. K. M. 39. SSW., Geb.-Gewicht 3.040 g, masculin

Geburt:

Das Kind wurde spontan geboren. Postpartal zeigte sich ein Kephalohämatom mit einem Ikterus.

Mikrobiologie:

Kein Nachweis von pathologischen Keimen.

Therapie:

Keine spezielle antibiotische Therapie.

Differentialblutbild mit PIC-Färbung:

Der Anteil der degranulierten Granulozyten hielt sich im Beobachtungszeitraum im Normbereich, mit Ausnahme eines geringgradig erhöhten Wertes am 8. Tag.

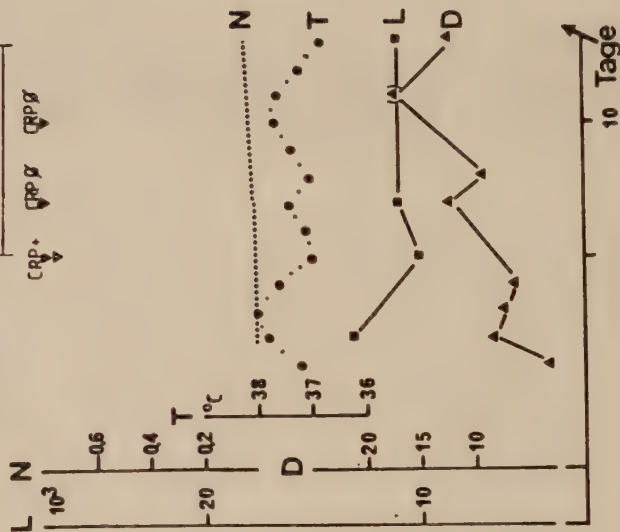
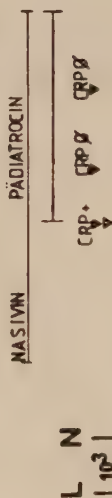
Klinische Infektionsparameter:

Die klinischen Parameter verhielten sich unauffällig.

Beurteilung:

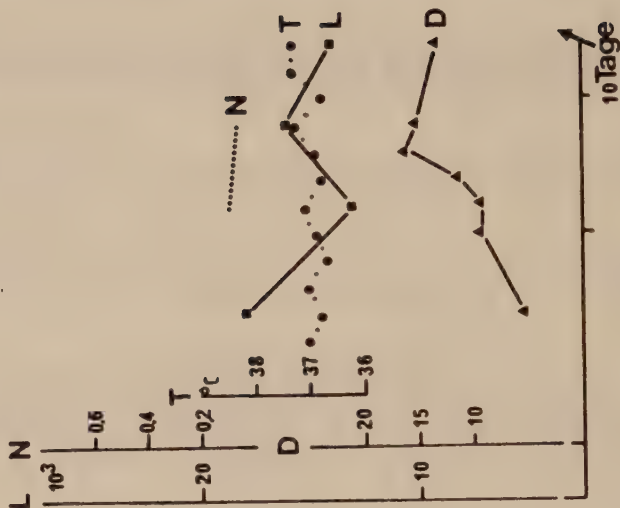
Die klinischen Infektionsparameter ergeben in Korrelation mit den mit PIC gefärbten Blutbildern keine Hinweise auf eine Infektion des Kindes.

MN ♂ SSW40 Spontan Apgar9/10/10
Geb.Gewicht 4780g



L = Leukocytenzahl
Q = Sauerstoffzufuhr
T = Temperatur
N = Stabkernige : Neutrophile Granulocyten
D = Degranulierte Granulocyten in %

K.M. ♂ SSW 39 Spontan Apgar8/9/10
Geb.Gewicht 3040g



Antibiotika — Beginn — Stop
d = Tag
Ra = Rachenabstrich
Na = Nasenabstrich
() = Blut geronnen

3.2.2. Kind mit fraglichem Infekt

3.2.2.1. S. F. 38. SSW., Geb.-Gewicht, 2.910 g, masculin

Geburt:

Dieses Kind wurde spontan geboren. Am 2. postpartalen Tag wurde das Kind wegen einem Verdacht auf eine Aspirationspneumonie in die Kinderpoliklinik verlegt. Außerdem hatte das Kind einen Schiefhals nach links mit bohnen-großer Verhärtung im mittleren Anteil des Musculus sternocleidomastoideus.

Mikrobiologie:

Am 8. Tag fanden sich im Nasenabstrich Staph. albus.

Therapie:

Ab dem 2. Tag bis zum 12. Tag wurde das Kind mit Baypen und Gernebcin behandelt.

Differentialblutbild mit PIC-Färbung:

Während des Beobachtungszeitraums bewegte sich der Anteil der degranulierten Graunlozyten im Normbereich mit Ausnahme eines erhöhten Wertes am 13. Tag von 19 %.

Klinische Infektionsparameter:

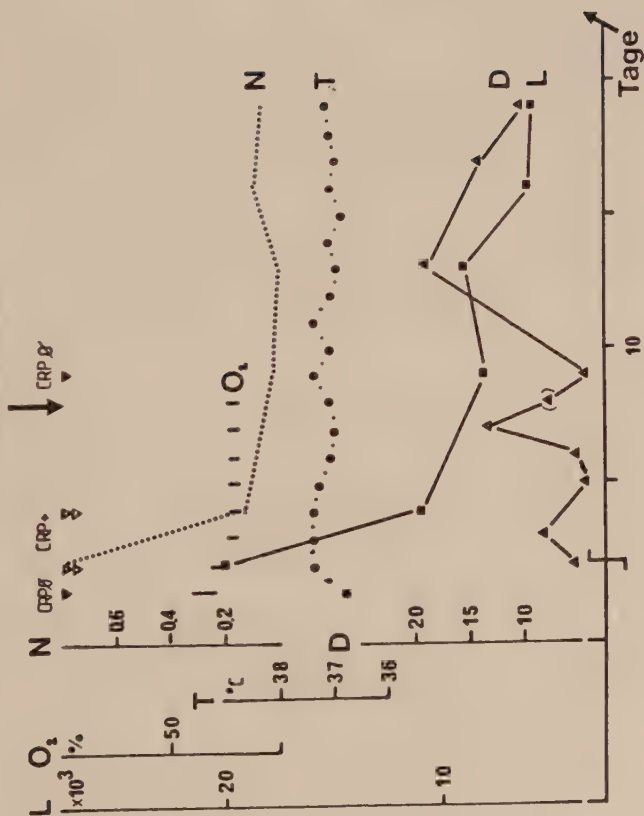
Die klinischen Parameter zeigten am 2. Tag einen hochgradig pathologischen Neutrophilenindex von 1 und ein schwach positives CRP, das noch am 4. Tag nachweisbar war. Der weitere Verlauf dieser Parameter verhielt sich unauffällig.

Beurteilung:

Bei Verdacht auf eine Aspiration und pathologisch erhöhtem Neutrophilenindex, sowie positivem CRP-Nachweis am 2. Tag, wird das Kind antibiotisch behandelt. In Diskrepanz zu diesem Befund findet sich ein niedrig normaler Anteil der degranulierten Granulozyten, der gegen einen floriden Infekt sprechen würde. Ebenso findet sich ein normaler Verlauf der Temperaturkurve und des Sauerstoffbedarfs. Während des weiteren stationären Aufenthaltes ist eine Normalisierung sämtlicher Parameter nachweisbar. Eine kurzfristige geringgradige Erhöhung der degranulierten Granulozyten ist möglicherweise streßbedingt.

S.F.♂ SSW 38 Spontan Apgar9/9/10 Geb.Gewicht 2910g V.a. Aspirationspneumonie

BAYPEN GERNEBCIN
NA: STAPH. ALBUS



L = Leukocytenzahl

Q = Sauerstoffzufuhr

T = Temperatur

N = Stabkernige : Neutrophile Granulocyten

D = Degranulierte Granulocyten in %

— = Antibiotika

▼ CRP Ø = CRP negativ

▼ CRP+ = CRP positiv

↗ Entlassen

↘ Verlegt

— = Beginn — Stop

d = Tag

Ra = Rachenabstrich

Na = Nasenabstrich

() = Blut geronnen

4. Übersicht über die gefundenen Keime:

Unter die Laboruntersuchungen, die bei Verdacht auf eine Infektion durchgeführt wurden gehörten die Entnahme von Liquor-, Magensaft-, Harn- und Stuhlproben, Abstriche der Augen, Ohren, Nase, des Rachens, sowie des Infusionsbesteckes und Teile der Beatmungsgeräte zur bakteriologischen Untersuchung.

Eine Übersicht soll die Häufigkeit und Lokalisation der bei den 20 untersuchten Kindern nachgewiesenen Keime veranschaulichen.

Venenkatheter: 1 Häm. Streptokokken der Gruppe D

Tubusspitze: 2 Häm. Streptokokken der Gruppe D
6 Staph. albus
1 Vergrünend. Streptokokken

Tubuswasser: 1 Häm. Streptokokken der Gruppe D
20 Staph. albus
1 Vergrünend. Streptokokken

Auge: 1 Staph. albus
1 Staph. aureus

Magensaft: 2 Häm. Streptokokken der Gruppe D
1 Staph. albus
1 Vergrünend. Streptokokken

Ohr: 2 Häm. Streptokokken der Gruppe D
7 Staph. albus
1 Staph. aureus

Nase: 4 Häm. Streptokokken der Gruppe D
 10 Staph. albus
 2 Staph. aureus
 1 Vergrünende Streptokokken

Rachen: 5 Häm. Streptokokken der Gruppe D
 9 Staph. albus
 2 Staph. aureus
 1 Vergrünende Streptokokken

5. Diskussion:

Die Fluoreszenzmethode nach Suschke ist bisher schon zum Nachweis von Infektionen verwandt worden (3). Hierbei kann durch eine spezielle PLC-Färbemethode die Degranulation von Granulozyten als Reaktion auf eine Infektion nachgewiesen werden (4; 17; 3).

In dieser Arbeit wurde untersucht, ob diese Methode sich auch als Mikromethode mit 50 μ l Kapillarblut zum Nachweis von Infektionen bei Neugeborenen eignet.

Zur Früherkennung einer Infektion mußte frühest möglich und in regelmäßigen Abständen kapilläres Blut entnommen werden. Hierbei bereitete besonders die rasch einsetzende Gerinnung erhebliche Schwierigkeiten, die einerseits durch die Aktivierung von extrinsischen Gerinnungsfaktoren an der Oberfläche der Glaskapillare andererseits durch die Freisetzung von Gewebsthrombokinase bei mechanischen Manipulationen erklärt werden kann (7). Zur Vermeidung dieser Komplikation sollte das Blut möglichst zügig in ein mit EDTA beschichtetes Röhrchen tropfen und vorsichtig umgeschwenkt werden. Eine forcierte Blutentnahme durch Gewebsmassage sollte möglichst vermieden werden, da hierdurch nicht nur ein Volumenfehler von bis zu 15 % (20), sondern zusätzlich eine artificielle Degranulation der Granulozyten hervorgerufen werden kann. Anzumerken ist, daß auch der Gesundheitszustand des Kindes sich auf die Gerinnbarkeit auswirken kann (11).

Nach Inkubation der Blutprobe mit Resochin zur Stabilisierung der Membran und Hemmung der Lysosomenwirkung (9), sowie mit Benzol zur Degranulation der Monozyten

und Lymphozyten (19), lassen sich die Granula der Granulozyten mit dem Farbstoff PIC anfärben und unter dem Fluoreszenzmikroskop auswerten.

Während die granulierten Granulozyten am Aufleuchten der Granula eindeutig zu erkennen waren, war eine Unterscheidung der degranulierten Granulozyten von Lymphozyten und Monozyten oft problematisch. Dabei war insbesondere auf die Kernplasmarelation, sowie die typische Kernkonfiguration zu achten, wobei sehr häufig eine Verklumpung der Struktur (s. Abb. 3) möglicherweise durch Benzol hervorgerufen wurde, und die Zelle somit nicht eindeutig differenzierbar war. Ein weiterer Differenzierungspunkt waren die Vakuolen der Granulozyten, da im Gegensatz zu ihnen die Normoblasten und sonstige undifferenzierte Zellen noch keine spezifische Tätigkeit übernommen haben und es somit noch zu keiner Vakuolenbildung gekommen ist (20). Bei Problemen dieser Art empfiehlt sich eine vergleichende Auszählung mit einem simultan angefertigten Zweitpräparat. Erfahrungsgemäß bedeutete ein Anteil der degranulierten Granulozyten von über 15 %, ein Hinweis für eine Infektion.

Um die klinische Relevanz dieser Methode zu überprüfen wurde sie mit den heute üblichen Infektionsparametern wie Leukozytenzahl, Neutrophilenindex, Körpertemperatur, Sauerstoffzufuhr und dem C-reaktivem Protein verglichen.

Bei den in dieser Arbeit untersuchten 20 Kindern wurde bei 7 Kindern klinisch eine Infektion nachgewiesen. Hierbei ergab sich eine gute Korrelation der mit PIC - Färbemethode kontrollierten Blutbilder im Vergleich mit den bisher üblichen Infektionsparametern.

Während bei gesunden Kindern meist weniger als 15 % der degranulierten Granulozyten nachweisbar waren, fanden sich bei Kindern mit nachgewiesener Infektion ein Anteil bis zu 60 % (s. Kind M. C.) und stieg bei einer Sepsis bis zu über 70 % (12). Weiterhin konnten auch frische Infektionen unter Antibiotikatherapie an dem Anstieg des Anteles der degranulierten Granulozyten frühzeitig erkannt werden (s. Kind D. C.; L. E.). Dagegen mußten einmalig erhöhte Werte zum Teil auch auf besondere Streßsituationen des Kindes oder auf Alterationen bei der Blutentnahme zurückgeführt werden (s. Kind W. S.; S. J.; S. F.). Bei den Kindern ohne klinisch nachgewiesener Infektion zeigte sich durchwegs in Übereinstimmung mit den anderen Infektionsparametern ein Anteil der degranulierten Granulozyten im PIC gefärbten Blutbild unter 15 %.

Bei zwei weiteren Kindern aus dem untersuchten Kollektiv war eine auffällige Diskrepanz zwischen den klinischen Infektionsparametern und dem PIC gefärbten Blutbild nachweisbar. Möglicherweise ist bei dem Kind C. G. der erhöhte Anteil der degranulierten Granulozyten auf eine Besetzung des FC-Rezeptors der Granulozyten durch Immunkomplexe zurückzuführen, wobei es ohne Zellzerstörung zur Degranulation kommen kann (8, 13). Bei dem Kind S. E. konnte es nicht eindeutig geklärt werden.

Erschwerend für die Beurteilung der klinischen Relevanz dieser Methode war die Tatsache, daß die Kinder häufig prophylaktisch hochdosiert mit Breitbandantibiotika behandelt wurden und somit nie das Vollbild einer Infektion erfaßt werden konnte.

Zusätzlich konnte eine regelmäßige und kurzzeitige Überprüfung der mit PIC gefärbten Blutbilder häufig nicht erfolgen, da die Blutproben nur im Rahmen der routinemäßig erforderlichen Blutentnahmen zur Verfügung gestellt wurden.

Insgesamt gesehen ist die Mikrofärbemethode nach Suschke bei standardisierter Entnahmetechnik und hinreichend häufiger Entnahme von Blutproben eine gut geeignete Methode zum frühzeitig erfaßbaren Nachweis von Infektionen bei Neugeborenen.

6. Zusammenfassung:

In dieser Arbeit wurde eine Mikromethode zur Früherkennung von Infektionen bei neugeborenen Kindern geprüft.

Dazu wurde an 20 Kindern in regelmäßigen Abständen 50 μ l kapilläres Blut entnommen und selektiv die Granula der Granulozyten nach der PIC Färbemethode nach Suschke angefärbt. Ein erhöhter Anteil der degranulierten Granulozyten von mehr als 15 % galt als Infektionsindikator.

Bei 7 Kindern mit klinisch gesicherter Infektion zeigte sich ein erhöhter Anteil der degranulierten Granulozyten von bis zu 60 %, wobei ein Anstieg schon einige Tage vor Auftritt der klinischen Symptomatik nachweisbar war. Als Kontrollgruppe diente ein Kollektiv von 9 Kindern ohne klinisch nachweisbare Infektion. Bei weiteren 4 Kindern bestanden eine Diskrepanz zwischen den klinischen Infektionsparametern und den Ergebnissen der mit PIC gefärbten Blutbilder. Eine statistische Aussage war aufgrund des heterogenen Patientenguts nicht möglich.

Fehlermöglichkeiten ergaben sich insbesondere bei der Blutabnahme, wobei durch mechanische Alteration ein erhöhter Anteil der degranulierten Granulozyten vorge-
täuscht werden kann, und durch eine verzögerte Blutentnahme, die zu einer Gerinnung und somit zu einem nicht verwertbaren Ausstrich führt.

Insgesamt zeigte sich eine gute Korrelation der klinischen Infektionsparameter mit dem Anteil der degranulierten Granulozyten im mit PIC gefärbten Blutbild. Die Methode des fluoreszenzmikroskopischen Nachweises der mit PIC angefärbten Granulozyten ist somit ein guter Parameter zur frühzeitigen Erkennung der Infektion des Früh- und Neugeborenen.

7. LITERATURVERZEICHNIS

- 1.) BOYLE R., CHANDLER B., et al (1978)
Early identification of sepsis in infants with
respiratory distress
Pediatrics 62:744
- 2.) DIEKMANN L., KOTZUR J., (1976)
Sepsis im Neugeborenen- und Säuglingsalter
Klin. Pädiat. 188: 135 - 145
- 3.) DREWES A. (1984)
Fluoreszenzmikroskopische Differenzierung der
Granulozyten im Blut Neugeborener
Diss. LMU
- 4.) DUSWALD K., JOCHUM M., FRITZ H., (1982)
Neue Erkenntnisse zur Pathophysiologie und Patho-
biochemie der Sepsis und des septischen Schocks
Intense Care 2/82: 1 - 6
- 5.) FORTH W., (1980)
Allgemeine und spezielle Pharmakologie und
Toxikologie
Bibliographisches Institut, 3. überarbeitete Auflage
- 6.) HANSON L. et al., (1979)
Das c-reaktive Protein und sein diagnostischer Wert
insbesondere bei Infektionen
Laboratoriumsblätter 29:57 - 68
- 7.) HEIMBURGER N., KARGES H., SCHWINN H.,
Kleiner Gerinnungsstatus
Medizinische Information, Behringwerke
- 8.) HENSON P. M. (1971)
Interactions of cells with immune complexes:
Adherence, release of constituents and tissue injury.
J. exp. Med. 134: 114 - 118
- 9.) KUSCHINSKY G., (1978)
Kurzes Lehrbuch der Pharmakologie und Toxikologie
Georg Thieme Verlag
- 10.) MANROE B., et al (1979)
Neonatal bloodcount in health and disease
Pediatrics 95: 89

- 11.) MUNTEAN W., (1976)
Gerinnungsuntersuchungen aus Kapillarblut bei
Neugeborenen
Helv. Pädiatr. Acta , Aug: 149 - 158
- 12.) NOSS TH., SUSCHKE H. J., STELZL B., (1985)
Früherkennung der Neugeboreneninfektion
Poliklinik München
- 13.) OHLSEN K.; OLSSON J., (1977)
The extracellular release of Granulocyte collagenase
and elastase during phagocytosis and inflammatory
process
Scand. J., Haematol. 19: 145 - 151
- 14.) PILARS DE PILAR C. E., et al. (1980)
Akute Phase-Proteine bei Früh- und Neugeborenen
Klini. Pädiat. 192: 45 - 50
- 15.) SABEL K., et al (1979)
C-reaktive Protein (CRP) in Early Diagnosis of
Neonatal Septicemia
Acta Paediatr. Scand 68: 825 - 831
- 16.) SCHRÖDER U., HAUSWALDT CH., (1973)
Deutsche Med. Wochenschrift 98: 2391 - 2397
- 17.) SMOLEN E., WEISSMANN G., (1978)
The Granulocyte: Metabolic Properties and
Mechanisms of Lysosomal Enzyme Release
Urban & Schwarzenberg, Inc., Baltimore-Munich
- 18.) SUSCHKE H. J., GSCHWIND K., RODE G. (1976)
Fluoreszenzmikroskopischer Nachweis saurer Mucopolysaccharide in menschlichen Blut und Knochenmarkszellen.
Klin. Wschr. 54: 289 - 290
- 19.) SUSCHKE H. J., BENDER-GÖTZE CH., FINK U.,
Unterscheidung leukämischer - und nicht leukämischer Zellen im Blutaussstrich durch Fluoreszenzfärbung mit Pseudoisocyanin
Kinderpoliklinik der Universität München
- 20.) WENDT F., (1980)
Eine Einführung in die Blutzellkunde
Stormann-Verlag überarbeitete Auflage von 1974,

8. Danksagung:

Herrn Professor Dr. med. H. J. Suschke möchte ich meinen besonderen Dank für die Themastellung und für die zahlreichen wertvollen Diskussionen aussprechen.

Herrn Professor Dr. med. H. Spiess danke ich für die sehr guten Arbeitsbedingungen an der Kinderpoliklinik zu München.

Herrn Dr. med. T. Noss danke ich für sein Interesse und seine Anregung bei der experimentellen Arbeit.

Nach Beendigung dieser Arbeit bedanke ich mich besonders bei den diensthabenden Ärzten und Schwestern für ihre stete Unterstützung mit Rat und Tat.

9. Lebenslauf

Am 04.03.1956 wurde ich Birgitt Ingeborg S c h ä f e r geb. Stelzl, als 7 Kind von Dr. med. Franz Stelzl und dessen Ehefrau Elisabeth, geb. Dautl, Berufsberaterin in Mindelheim/Bayern geboren.

Von 1962 bis 1976 absolvierte ich meine Schulausbildung, die ich im Mai 1976 mit dem Abitur am Maristenkolleg in Mindelheim abschloß.

Anschließend begann ich eine Ausbildung als Pharmazeutisch-technische Assistentin an der Naturwissenschaftlich Technischen Akademie Prof. Dr. Grübler in Isny, die ich 1978 abschloß. Von 1978 bis 1981 arbeitete ich in pharmazeutischen Betrieben.

1981 begann ich mein Medizinstudium in Regensburg, wo ich 1983 mit dem Physikum die Vorklinik abschloß.

1984 legte ich das 1. Staatsexamen an der Ludwig-Maximilians-Universität in München ab. Mein Studium werde ich voraussichtlich 1987 beenden und 1989 die Approbation als Arzt erhalten.

Seit 28.06.1985 bin ich mit Herrn Dr. med. Frank-Wolfram Schäfer verheiratet.

An meiner Dissertation arbeitete ich von 1984 bis 1985 an der Kinderpoliklinik München.

